

SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

XLII. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin

21. – 23. 5. 2012

Skalský Dvůr



Karel Cejpek a Jindřich Špicner
editoři

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT v Praze
Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.

Praha 2012

Publikace neprošla jazykovou ani odbornou úpravou.
Za obsah příspěvků odpovídají autoři.

© Karel Cejpek a Jindřich Špicner, 2012

ISBN 978-80-7080-839-9 (Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.)
ISBN 978-80-86909-05-9 (Vysoká škola chemicko-technologická v Praze)
ISSN 1802-1433 (Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.)

Obsah

R - referáty

P - postery

R 1	4	Cuhra P.: Jsou nové techniky a technologie v potravinářství vždy přínosem pro spotřebitele?
R 2	5	Rosmus J.: Monitoring nepovolených látek, reziduí a látek kontaminujících v komoditách živočišného původu – výsledky a trendy v r. 2011
R 3	6	Čurda L.: Nové technologie a kvalita mlékárenských výrobků
R 4	10	Capouchová I., Konvalina, P., Škeříková A., Stehno Z.: Kvalita cereálních bioproduktů (pšenice špalda, dvouzrnka, jednozrnka) a možnosti jejich využití
R 5	14	Dostálek P.: České pivo - historie a současnost
R 6	18	Pavloušek P.: Možnosti hodnocení kvality a autenticity hroznů a vína
R 7	25	Adámková V.: Vliv konzumace speciálně krmného kapra na lipidový profil u KVO
R 8	27	Saláková, A., Pavlík, Z., Kameník, J., Steinhäuserová, I.: Hodnocení jakosti masných výrobků z tržní sítě
R 9	31	Grégrová A., Čížková H., Rajchl A., Šnebergrová J., Voldřich M.: Potenciální zdroje chyb při hodnocení podílu žloutků ve vaječných likérech
R 10	35	Dostálová J., Doležal M., Šípková A., Švehlová A.: Nutriční hodnota sójových nápojů
R 11	39	Hrbek V., Urbanová J., Vodrážka P., Kocourek V., Hajšlová J.: Monitoring výskytu herbicidu glyfosátu v čočce prodávané na českém trhu
R 12	43	Krtková V., Novotná H., Smutná L., Schulzová V., Hajšlová J.: Monitoring estrogenních látek v mléčných výrobcích z tržní sítě
R 13	47	Kadlec I.: Nové trendy v hodnocení kvality syrového mléka
R 14	53	Prokop J.: Přístroje pro hodnocení potravin
R 15	54	Knápek J., Vošmerová D., Rittichová J.: Chemická a fyzikální analýza medu vs. senzorické hodnocení
R 16	59	Panovská Z., Krausová K.: Senzorické vnímání náhražek soli
R 17	63	Vepříková Z., Zachariášová M., Václavíková M., Džuman Z., Hajšlová J.: Mykotoxiny v doplňcích stravy
R 18	67	Vrkoslavová J., Winklerová D.: Spotřeba konzervačních látek a sladidel v české republice
R 19	71	Hrušková M., Švec I., Kallasová E.: Hodnocení těstovin s přídavkem mlýnských výrobků z ječmene
R 20	75	Švec I., Hrušková M., Hofmanová T.: Stanovení retenční kapacity vybraných druhů kompozitní mouky
R 21	79	Šulová, R., Pospíchalová, M., Balarinová, A., Kabátová, N., Paličková, A.: Žluté pigmenty v odrůdách pšenice seté
R 22	82	Doležal M., Doublier C., Švehlová A., Dostálová J.: Obsah tuku a složení mastných kyselin tuku trvanlivého pečiva
R 23	86	Korbářová A., Věchet L., Řezáčová V.: Obrazová analýza listu pšenice napadeného bráničnatkou pšeničnou
R 24	90	Ciesarová Z., Kukurová K., Marková L., Sádecká J., Belková R.: Eliminácia akrylamidu: zvýšenie bezpečnosti a zachovanie kvality cereálnych potravín
R 25	93	Marková L., Mešková E., Sindler W., Bednářiková A., Kukurová K., Murkovic M., Ciesarová Z., Šimko P.: Eliminace akrylamidu v sušenkách s fruktózou aplikací enzymu L-asparaginázy
R 26	97	Ilko V., Doležal M., Velíšek J.: Studium vzniku vybraných procesních kontaminantů z monopalmitinu
R 27	101	Cejpek K., Kavalířová J., Konečný M., Velíšek J.: A-dikarbonylové sloučeniny v kávě
R 28	105	Bittner M., Procházková G., Matoušková D., Brányik T.: Adhezni vlastnosti anaerobních kontaminantů v pivovarství
R 29	106	Duchová I., Horsáková I., Čížková H., Slavíková B., Voldřich M.: Octové bakterie jako příčina kažení nealkoholických nápojů
R 30	110	Čížková H., Rajchl A., Neradová E., Kapci B., Šnebergrová J., Grégrová A., Voldřich M.: Průkaz a kvantifikace arónie v ovocných šťávách
P 1	114	Šulová R., Čížmár D., Pospíchalová M.: Využití NIR spektroskopie v analytice odrůdového zkušebnictví
P 2	115	Svoboda Z., Mikulíková R., Běláková S., Benešová K.: Stanovení obsahu lipidů a zastoupení mastných kyselin v obilce ječmene a ve sladu
P 3	116	Flodrová D., Benkovská D., Bobál'ová J.: Sledování kvalitativních a kvantitativních změn proteomu ječmene na úrovni odrůdových rozdílů a změn v důsledku sladování

P 4	120	Jirsa O., Kyseláková Z., Polišenská I.: Hodnocení vybraných odrůd pšenice reologickými přístroji
P 5	124	Jirsa O., Vaculová K., Martínek P., Stehno Z., Laknerová I.: Hodnocení netradičních genotypů pšenice a ječmene pro potravinářské využití
P 6	128	Ošťádalová M., Malá L., Čáslavková P., Eliášová M., Tremlová B., Tauferová A.: Enzymy v pekárenské technologii a jejich využití
P 7	130	Homola, L., Hřivna, L., Kotková, B.: Hodnocení kvality bílkovinného komplexu vybraných odrůd pšenice pro pekárenské a pečivářské využití
P 8	135	Mikulíková R., Svoboda Z., Běláková S., Benešová K.: Sledování akrylamidu v průběhu sladování a v pivu
P 9	136	Pražáková Š., Kvasnička F., Volřich M.: Sledování viability pivovarských kvasinek pomocí elektromigračních metod
P 10	140	Linhová M., Pražáková Š., Patáková P., Rychtera M., Kvasnička F., Melzoch K.: Průtoková cytometrie jako rychlá a přesná metoda detekce viability pivovarských kvasinek
P 11	144	Širmerová M., Bittner M., Brányik T. : Využití jednobuněčných řas <i>Chlorella</i> sp. v pivovarnictví
P 12	145	Procházková G., Bittner M., Šiřšířová L., Vondra V., Brányik T. : Predikce adheze mikroorganismů kontaminujících potravinářské provozy
P 13	149	Vošmerová D., Knápek J., Rittichová J.: Vliv organických kyselin na senzorické vlastnosti vína
P 14	152	Máriássyová M., Káčerík S., Káčerík P.: Optimalizácia výroby stabilizovaných polyfenolov
P 15	156	Rohlík B.A., Pipek P., Šimoniová A.: Mould growth on cooked/dried sausages
P 16	160	Daňhelová H., Hradecký J., Přinosilová Š., Moravcová E., Bělková B., Čajka T., Riddellová K., Hajšlová J.: Potenciál hmotnostní spektrometrie pro rychlý monitoring biogenních aminů a dalších markerů jakosti masa a ryb
P 17	161	Trnková J., Prokůpková L.: Změny rybího tuku v závislosti na intravitálních vlivech
P 18	162	Šimoniová A., Potůček T., Rohlík B.A., Pipek P.: Současné složení vepřového sádla
P 19	166	Roubíčková I., Chrpová D., , Doležal M., Kouřimská L., Pánek J.: Možnosti použití některých rostlin čeledi Apiaceae ke stabilizaci tuků proti oxidaci
P 20	170	Fišnar J., Réblová Z.: Stanovení tokoferolů pomocí HPLC s amperometrickou detekcí na kolonách s pentafluorofenylovou stacionární fází
P 21	174	Živčáková M., Korbářová A., Ševčík R., Řehořková K.: Chipsy ako ich nepoznáme
P 22	178	Šnebergrová J., Čížková H., Grégrová A., Duchová I., Voldřich M.: Ukazatele senzorické kvality sušeného mléka
P 23	182	Marková M., Borková M., Peroutková J., Pechačová M., Zikán V., Novák P., Nehyba A., Mátlová V.: Porovnání růstu vybraných mlékařských kultur na kozím a kravském mléce
P 24	187	Borková M., Marková M., Snašlová J., Mátlová V., Sztankoová Z.: Sledování změn ve složení kozího mléka v závislosti na genetické variantě <i>αs1</i> -kaseinu
P 25	191	Pinkrová J., Bohačenko I., Kunová G., Peroutková J.: Stanovení galaktooligosacharidů metodou HPLC s refraktometrickou detekcí
P 26	195	Horsáková I., Duchová I., Ambrozková H., Čížková H., Václavíková E., Grégrová A., Rohlík B., Voldřich M.: Využití probiotických kultur k přípravě kysaného zeli
P 27	199	Čížková H., Rajchl A., Horsáková I., Šnebergrová J., Kružík V., Voldřich M.: Stabilita a prebiotický účinek inulinu přidaného do dětských ovocných výživ
P 28	203	Mukařovská V., Čížková H., Rajchl A., Ševčík R., Šnebergrová J., Voldřich M.: Implementace nových poznatků do postupu stanovení siričitanů v potravinách
P 29	207	Prošková A., Kmínková M., Honzová S., Šetinová I., Paprštejn F.: Meziroční srovnání skladovaných jablek z hlediska obsahu alergenů mal d1
P 30	211	Rajchl A., Ševčík R., Horsáková I., Pozner J., Grégrová A., Voldřich M.: Rychlá pomoc při hodnocení a optimalizaci tepelného ošetření potravin
P 31	214	Holasová M., Fiedlerová V., Mašková E., Rysová J., Winterová R., Gabrovská D., Macháčková M.: Generace dat pro českou databázi složení potravin – nutriční hodnocení tradičních českých omáček
P 32	218	Konečný M., Šubrtová M., Velíšek J., Cejpek K.: Reakce redukujících látek s karbonylovými sloučeninami v Maillardově reakci

R 1**JSOU NOVÉ TECHNIKY A TECHNOLOGIE V POTRAVINÁŘSTVÍ VŽDY PŘÍNOSEM PRO SPOTŘEBITELE?**

Cuhra P.

Státní zemědělská a potravinářská inspekce, Inspektorát v Praze

ABSTRAKT

Nové, moderní, technologie přinášejí zpravidla spotřebitelům prospěch. Potraviny jsou dnes bezpečnější, mají delší užitnou hodnotu, dostávají se ke spotřebiteli v novém balení a v inovativní podobě. Výhodné jsou nové technologie samozřejmě také pro výrobce, neboť mu často umožňují vyrábět levněji a efektivněji. Umožňují mu snazší distribuci výrobku ke konečnému spotřebiteli a mohou být přátelštější k životnímu prostředí. Nicméně, někdy mohou být nové technologie kompromisem ve vztahu ke kvalitě potravin. A tak to, co může znít na první pohled vzletně, nemusí být vždy pro spotřebitele v konečném důsledku přínosem. Příkladem může být „křehčené“ drůbeží maso nebo „glazované“ rybí filety – obojí v důsledku prostředkem pro přidavek vody. Některé praktiky, jako je přebalování a přetiketování prošlých sýrů a salámů nebo omývání zkaženého masa octem jsou pak technologiemi jen v uvozovkách.

R 2**MONITORING NEPOVOLENÝCH LÁTEK, REZIDUÍ A LÁTEK KONTAMINUJÍCÍCH V KOMODITÁCH ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU – VÝSLEDKY A TRENDY V R. 2011**

Rosmus J.

Státní veterinární ústav Praha

ABSTRAKT

Monitoring provádí Státní veterinární správa České republiky zejména na základě směrnice Rady 96/23/ES, 96/22/ES, rozhodnutí Rady 98/179/ES a rozhodnutí Komise 97/747/ES. Počty plánovaných odběrů jsou kalkulovány z celkového počtu jednotlivých druhů poražených zvířat a z celkové produkce potravin a surovin živočišného původu za posledních 12 měsíců. Analýzy odebíraných vzorků jsou součástí státní kontroly zdravotní nezávadnosti krmiv a potravin živočišného původu v rámci kontroly dodržování požadavků všeobecného potravinového práva (nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 178/2002/ES) provozovateli potravinářských podniků.

Monitoring je zaměřen na tyto skupiny látek:

Skupina A - látky s anabolickým účinkem a nepovolené látky:

A1. Stilbeny, deriváty stilbenů, jejich soli a estery

A2. Látky s thyreostatickým účinkem

A3. Steroidy

A4. Laktony kyseliny resorcylové včetně zeranolu

A5. Beta agonisté

A6. Látky s farmakologickým účinkem, pro které nemohou být stanoveny žádné maximální limity

Skupina B – veterinární léčivé přípravky (včetně nepovolených látek, které by mohly být použity pro veterinární účely) a látky kontaminující:

B1. Antimikrobiální látky - beta-laktamy, makrolidy, tetracykliny, sulfonamidy, chinolony

B2. Ostatní veterinární léčiva – antiparazitika, antikokcidika, karbamáty a pyretroidy, sedativa, nesteroidní protizánětlivá léčiva, ostatní farmakologicky účinné látky

B3. Látky kontaminující – organochlorové sloučeniny, dioxiny, furany, PCB, organofosforové pesticidy, chemické prvky, mykotoxiny, barviva a ostatní látky.

Nejvíce nevyhovujících (nadlimitních) nálezů zjištěných v rámci plánovaných odběrů je ve skupinách B3e (nepovolené používání malachitové zeleně a krystalové violeti u ryb) B2b (antikokcidika v krmivech, vejcích a tkáních), B3c (kadmium v ledvinách skotu a olovo u lovné zvěře), B3f (postčernobylské nálezy Cs-137 u divokých prasat z NP Šumava). Ojedinelé jsou nálezy antimikrobiálních látek ve tkáních a mléce hospodářských zvířat, chloramfenikolu, DDT, dioxinů. Zprávy za jednotlivé roky lze najít na www.svscr.cz, Kontaminace potravních řetězců cizorodými látkami, situace v roce 2011“.

R 3**NOVÉ TECHNOLOGIE A KVALITA MLÉKÁRENSKÝCH VÝROBKŮ**

Čurda L.

Ústav mléka, tuků a kosmetiky, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Kvalita mlékárenských výrobků (a potravin obecně) má několik aspektů. K těm hlavním patří kvalita nutriční, senzorická, mikrobiologická, která úzce souvisí s bezpečností a trvanlivostí. Kvalita mlékárenských výrobků se odvíjí především od kvality suroviny (patrně ve větší míře než u ostatních potravin) a použité technologie zpracování na finální výrobek. Kvalita mléka se po r. 1989 výrazně zvýšila, v poslední době však poněkud stagnuje. Lze konstatovat, že sortiment a kvalita mléčných výrobků se v posledních 20 letech výrazně zvýšila, podíl na tom má kromě kvality suroviny, hygieny a sanitace ve výrobě i dokonalejší balení výrobků. Nové výrobky a nové technologie jsou často zaměřeny na vyšší bezpečnost, delší trvanlivost výrobků a snížení výrobních nákladů, menší pozornost je už věnována nutriční kvalitě.

Základním mlékárenským výrobkem je konzumní mléko, klíčovou operací technologického procesu je tepelné ošetření, které zajišťuje zdravotní nezávadnost a zásadním způsobem ovlivňuje trvanlivost, senzorické vlastnosti a částečně i nutriční hodnotu. Konzumní mléko podle platné legislativy může být pasterované (min. 71,7 °C; 15 s, negativní test na fosfatasu, pozitivní na peroxidasu), vysoce pasterované (min. 85 °C s negativním výsledkem peroxidasového a fosfatasového testu), UHT (min 135 °C; 1 s), sterilované (záhřev nad 100 °C zaručující trvanlivost 15 dnů při 30 °C). Výhodou čerstvého (tj. pasterovaného příp. vysoce pasterovaného) mléka jsou lepší senzorické vlastnosti a minimální změny složek mléka (denaturace bílkovin, ztráty vitaminů). Naproti tomu UHT mléko je pro spotřebitele pohodlnější a cenově výhodnější, je příznivější i z ekologického hlediska, protože nevyžaduje chlazení při skladování. Senzorické změny jsou patrné, negativně je vnímá jen část spotřebitelů. Ztráty většiny vitaminů nebo využitelného lysinu nejsou příliš významné, mohou však značně narůst během skladování. Změny některých složek, které se často využívají jako indikátory tepelného ošetření, jsou uvedeny v tab. I. U nás výrazně převažuje spotřeba UHT mléka (84,6 %) nad čerstvým mlékem. Podobně je tomu např. v Belgii, Francii, Portugalsku nebo Španělsku, vyrovnaný poměr obou typů je např. v Německu, Itálii, Polsku či Švýcarsku, čerstvé mléko zcela dominuje Dánsku, Finsku, Řecku, Norsku, Švédsku a Velké Británii. Celosvětově se čerstvé mléko podílí 35,6 %, trvanlivé 24,8%, obnovené 12,1% zbytek tvoří přímá spotřeba.

Hledání nových technologií pro výrobu konzumního mléka se ubírá dvěma směry - jsou hledány alternativy tepelného ošetření (ohmický, mikrovlnný a infračervený ohřev, UV a gama záření, ultrazvuk, vysoký tlak, pulzní elektrické pole) a je zdokonalováno tepelné ošetření tak, aby byly minimalizovány chemické změny a současně byla dosažena požadovaná mikrobiologická kvalita. Přes mnohaletý výzkum v oblasti alternativ tepelného ošetření je zatím praktická využitelnost těchto technologií pro mléko a mlékárenské výrobky zatím velmi omezená. Perspektivnější se zdají kombinace postupů, nevýhodou tohoto přístupu jsou zvýšené pořizovací i provozní náklady.

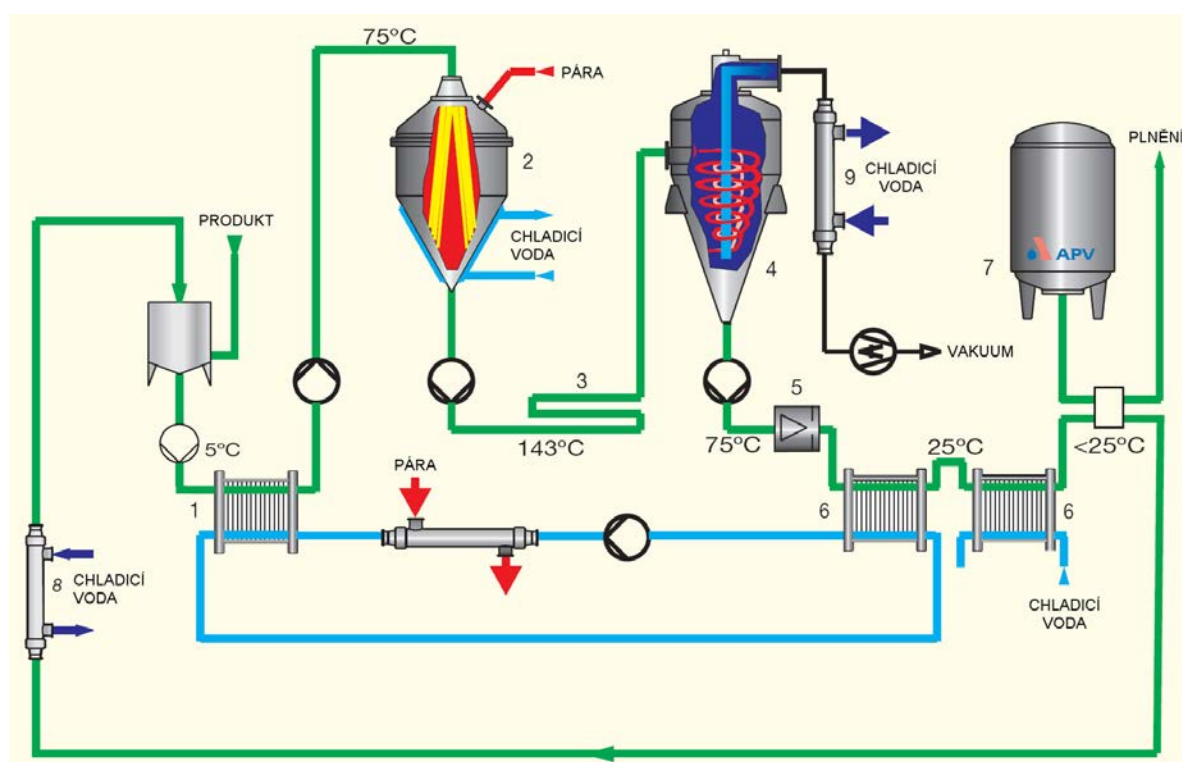
V oblasti konzumního mléka se v posledních letech prosadilo mléko s prodlouženou trvanlivostí (ESL - extended shelf life). ESL mléko vychází vstříc příklonu k „čerstvým“ výrobkům, který navazuje na negativní vnímání průmyslově zpracovaných potravin, na oblibu farmářských trhů, „domácích“ výrobků, prodej syrového mléka z mlékomatů apod. ESL mléko si zachovává do značné míry senzorické a nutriční vlastnosti čerstvého mléka.

Produkty ESL mají delší trvanlivost (obvykle 15 - 25 dní při 7 °C) než pasterované mléko při skladování za stejných podmínek, tzn. že i ESL mléko je nutné skladovat za chladu. Trvanlivost obvykle delší i při skladovací teplotě 7 - 10 °C. Neexistuje jednotná mezinárodně přijatelná definice nebo legislativní rámec ESL mléka, proto je takto ošetřené mléko označováno jako čerstvé (není rovněž legislativně definováno). Hlavními technologiemi jsou modifikované tepelné ošetření a baktofugace nebo mikrofiltrace kombinovaná s tepelným ošetřením. Za nejméně vhodný a nejméně účinný postup lze považovat opakovanou pasteraci. Výhodou zařazení baktofugace nebo

mikrofiltrace je fyzické odstranění mikroorganismů včetně enzymů, které jsou obsaženy v jejich buňkách. Další technologií je ultrapasterace, která ve srovnání s UHT záhřevem používá poněkud nižší teploty, (123 - 130 °V, 1 - 5 s). U nás je poměrně rozšířený systém mžikové infuze (Pure-Lac, APV, obr. 1.), který umožňuje velice rychlý ohřev ($600\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{s}^{-1}$) na teplotu 135 - 140 °C s výdrží menší než 1 s.

Tab. I. Porovnání změn mléka při různém tepelném ošetření (Belloque et al., 2009)

Tepelné ošetření	β -laktoglobulin	laktulosa	furosin
	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg ve100 g bílkovin
pasterace	2600	~ 0	8
vysoká pasterace	2000	~ 0	20
ESL	> 1800	< 30	< 12
UHT	50	< 600	250



Obr. 1. Schéma tepelného ošetření Pure-Lac. 1 - předehřev na deskovém výměníku, 2 - infuzní komora, 3 - nádoba pro bleskovou expanzi, 5 - aseptický homogenizátor, 6 - deskové chladiče, 7 - aseptický tank, 8 - chladič, 9 - kondenzátor (podle APV, 2008)

Vysoké teploty s ultrakrátkým ohřevem využívá rovněž inovativní injekce páry (ISI, innovative steam injection), při které se dosahuje 150 - 200 °C s výdrží 0,1 s (van Asselt et al., 2008). Z mikrobiologického hlediska představuje pro ESL mléko největší riziko přítomnost spor *Bacillus cereus*. ESL mléko vyrobené moderními technologiemi by mohlo být skladováno i při vyšších teplotách, znemožňuje to však přítomnost plasminu v mléce, který degraduje mléčné bílkoviny a způsobuje senzorické vady (van Asselt et al.; 2008, de Jong, 2008). V současné době většina výrobců čerstvého konzumního mléka u nás přešla na technologii ESL.

Ani UHT záhřev nemusí zajistit vždy úplnou sterilitu. V případě kontaminace *Bacillus sporothermodurans* je nutný záhřev až na 150 °C po dobu 2 - 6 s. Umožňuje to např. technologie high-heat infusion, která kombinuje přímý a nepřímý záhřev.

V poslední době se také objevily nové sterilované výrobky, kde není cílem co nejšetnější ošetření. Při výrobě karamelizovaného zahuštěného slazeného mléka je naopak technologie

upravena tak, aby proběhla karamelizace a procesy neenzymového hnědnutí. Tento výrobek zavedli na trh oba výrobci zahuštěného mléka u nás Mlékárna Hlinsko (Salko karamel) a Bohemilk - mlékárna Opočno (Caramelo Condé). Karamelizované mléko je určené pro použití do cukrářských výrobků, krémů apod.

Značný potenciál pro mlékárenský průmysl představují membránové procesy, které se ve světě využívají již řadu let, u nás se však ve větší míře začínají uplatňovat až v posledních letech. Standardizace obsahu bílkovin pomocí ultrafiltrace při výrobě sýrů zajišťuje menší variabilitu hmotnosti u kusových sýrů, např. u sýrů s plísní na povrchu, přináší úsporu syřidla a navyšuje kapacitu výroby. Ultrafiltrace přispívá rovněž ke kvalitě jogurtů (Olma a.s.), protože navýšení obsahu bílkovin - především kaseinu zlepšuje konzistenci pomocí přirozených složek mléka bez použití hydrokoloidů. Rozšiřuje se dále zahušťování syrovátky pomocí reverzní osmózy. Ke zpracování syrovátky slouží také první elektrodialyzační zařízení (Moravia Lakto, a.s.). Potěšitelné je, že se navíc jedná o zařízení vyvinuté a vyrobené v ČR (Mega a.s.). Demineralizace zlepšuje senzorické vlastnosti, důležitá je i z nutričního hlediska při aplikaci do kojenecké výživy. Pozitivní je přednostní odstraňování jednomocných kationtů při nižších stupních demineralizace.

Ultrafiltrace je podstatnou součástí technologie mikropartikulovaných bílkovin syrovátky, která se zatím u nás neuplatňuje, ale po vypršení původního patentu je tato technologie podstatně dostupnější. Surovinou je koncentrát bílkovin syrovátky, který se ošetří kombinací záhřevu (90 - 120 °C, 5 min až 4 s) a intenzivního mechanického působení ve stříhu (5000 - 40000 s⁻¹). Linky na produkci mikropartikulovaných bílkovin vyrábí několik firem. Pro mechanické ošetření se nejčastěji používá výměník se stíraným povrchem (technologie CreamoProt - Alpma a LeanCreme - APV) a vysokotlakým homogenizátorem za tlaku 75 - 100 MPa (Tetra Therm MicroPart - TetraPak). Je zmiňováno i použití extruderu, někteří výrobci princip neuvádějí (Micro Formula - GEA). Vzniknou tak částice velikostí srovnatelné s tukovými kuličkami, optimální velikost je mezi 2 a 7 µm. Mikropartikulované bílkoviny syrovátky zlepšují jinak obvykle málo atraktivní senzorické vlastnosti nízkotučných výrobků. Mají poměrně široké aplikační možnosti - do přírodních a tavených sýrů, fermentovaných výrobků, majonéz, omáček, cukrovinek, zmrzlin, pečiva i různých sušených výrobků.

Zatím poměrně málo rozšířené jsou chromatografické postupy. Umožňují však získat produkty často s vysokou biologickou aktivitou (např. antibakteriální, imunomodulační, snižující krevní tlak nebo s transportní funkcí) a vysokou přidanou hodnotou. Úspěšně byla chromatografie použita při výrobě mléka vhodného pro spotřebitele s intolerancí laktosy finskou firmou Valio. Chromatografická separace části laktosy zajišťuje srovnatelnou sladkou chuť mléka po hydrolýze laktosy β-galaktosidasou, protože glukosa a galaktosa mají vyšší sladivost než původní laktosa. Při tepelném ošetření mléka s hydrolyzovanou laktosou je také nutné počítat s vyšší reaktivitou monosacharidů. U nás jsou výrobky s hydrolyzovanou laktosou dostupné pouze z dovozu. Naším výrobcům komplikuje uvedení výrobků na trh nevhodná legislativa, protože neumožňuje výrobky označit jako bezlaktosové, pokud obsahují galaktosu po hydrolýze laktosy. Přípustné je pouze označení s nízkým obsahem laktosy. Legislativa není v EU jednotná a v okolních zemích je značně benevolentnější. Chromatografie je vhodná také pro separaci galaktooligosacharidů, které vznikají jako „vedlejší produkt“ při hydrolýze laktosy (Henke et al., 2007).

Kontroverzní je použití geneticky modifikovaných organismů (GMO) v potravinářských technologiích. V mlékárenském průmyslu je z tohoto pohledu významné využití chymosinu produkovaného fermentačně. GMO nejsou využívány přímo, ale pouze jejich produkty, které neobsahují živé buňky. Klasické syřidlo izolované z žaludků sajících telat již řadu let nedostačuje a mikrobiální syřidla, používaná od r. 1970, mohou vést k odchylkám ve zrání některých sýrů nebo způsobovat senzorické a konzistenční vady. Od r. 1990 vyrábí firma Chr. Hansen syřidlo Chy-Max pomocí *Aspergillus niger* var. *awamori*, do kterého byl vnesen gen pro chymosin. Podobným způsobem se vyrábí Maxiren pomocí *Kluyveromyces lactis* (DSM Food Specialties). Pomocí těchto syřidel je nyní ve světě vyráběna přibližně polovina sýrů, mikrobiální syřidla mají asi 30% podíl. Zajímavou novinkou v této oblasti je Chy-Max M - fermentačně produkovaný velbloudí chymosin, který má aminokyselinovou sekvenci jen z 85 % shodnou s bovinním chymosinem, při srážení

kravského kaseinu však vykazuje 2x vyšší specifickou aktivitu a přibližně 6x vyšší specifitu ke κ -kaseinu. Omezená proteolýza ostatních frakcí kaseinu je výhodná například u sýrů typu Mozzarella, protože nedochází k měknutí při delším skladování. U dlouhozrajících sýrů může omezená proteolýza zabránit hořknutí.

Ústav mléka, tuků a kosmetiky VŠCHT Praha se podílí na organizaci soutěže Mlékárenský výrobek roku, který je zaměřen na nové výrobky uvedené na trh za uplynulý rok. V řadě případů se nejedná o nové výrobky v pravém slova smyslu. Obvykle je inovován obal nebo je použito nové ochucení, použití nové technologie se objevuje spíše výjimečně. K zajímavým novinkám letošního 10. ročníku patřily z tekutých výrobků např. syrovátkový nápoj Fitness (Madeta a.s.) - jeho základem je kyselá syrovátka ošetřená nanofiltrací - nebo Extra smetana do kuchyně 28% (Mlékárna Hlinsko a.s.) s upravenými funkčními vlastnostmi. Mezi sýry patřil k nejvýraznějším novinkám Tylžský sýr (Madeta a.s.), polotvrdý sýr zrající pod mazovou kulturou, na konci zrání je povrch ošetřen plastovým nátěrem. Tento sýr byl úspěšný i na Celostátních přehlídkách sýrů. Nová UHT technologie byla použita pro tavený sýr Apetito (TPK s.r.o.), který není nutné skladovat při nízké teplotě.

Tlak na inovace výrobků je v současné době značný, dochází ke zrychlování inovačního procesu. Spotřebitelé jsou zahlceni novinkami, i to je jeden z důvodů, proč 80 % nových výrobků se nevyrábí déle než jeden rok. Principiálně nové technologie se ovšem objevují zřídka. I když v některých případech mají pozitivní vliv na kvalitu výrobků, jejich širšímu uplatnění mnohdy brání zvýšené náklady.

Poděkování

Tato práce byla realizována za podpory grantů MSM 6046137305 a MPO FR-TI1/470.

Použitá literatura

APV: Dairy technology, s. 23, firemní literatura APV 2008.

Belloque J., Chicón R., Recio I.: Quality Control, in Milk Processing and Quality Management (ed. A. Y. Tamime). Blackwell Publishing, Oxford 2009.

de Jong P.: Thermal Processing of Milk, in Advanced Dairy Science and Technology (eds. T. J. Britz and R. K. Robinson). Blackwell Publishing, Oxford 2008.

Henke S. Kubát M., Čurda L., Hellerová K., Bubník Z.: The hydrolyzed whey separation on SMB continuous chromatographic system. Proceedings of 5th International Congress on Food Technology (Ed. E. S. Lazos), Vol. 1, s. 231 - 239, Hellenic Association of Food Technologists 2007. ISBN 978-960-88557-2-4.

van Asselt A. J., Sweere A. P. J., Rollema H. S., de Jong P.: Extreme high-temperature treatment of milk with respect to plasmin inactivation. International Dairy Journal 18, 531–538 (2008).

R 4**KVALITA CEREÁLNÍCH BIOPRODUKTŮ (PŠENICE ŠPALDA, DVOUZRNKA, JEDNOZRNKA) A MOŽNOSTI JEJICH VYUŽITÍ**Capouchová I.¹, Konvalina, P.², Škeříková A.¹, Stehno Z.³¹⁾ Katedra rostlinné výroby FAPPZ, Česká zemědělská univerzita v Praze, 165 21 Praha 6 - Suchbát²⁾ Katedra aplikovaných rostlinných biotechnologií, Zemědělská fakulta Jihočeské univerzity, Studentská 13, 370 05 České Budějovice³⁾ Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Drnovská 507, 161 06 Praha 6 - Ruzyně

V souvislosti s rozvojem ekologického zemědělství stoupá zájem o netradiční, maloobjemové, staré nebo alternativní plodiny. Jsou to plodiny převážně méně výnosné, vyznačují se však zpravidla řadou pozitivních vlastností, jako je vysoká nutriční hodnota, nenáročnost a schopnost obejít se bez průmyslových hnojiv a pesticidů. To vše je předurčuje zejména pro ekologické či low input systémy. Příkladem těchto minoritních plodin jsou některé druhy rodu *Triticum* – *T. monococcum* (jednozrnka), *T. dicoccon* (dvouzrnka) a *T. spelta* (špalda). Zvyšující se zájem ze strany spotřebitelů je dán požadavky na zpestření stravy a její obohacení o produkty nových kvalit a v poslední době též zvyšujícím se zájmem o bioprodukty.

Kolekce genetických zdrojů pšenice v genobance VÚRV Praha-Ruzyně je největší z kolekcí genetických zdrojů rostlin v ČR (Stehno et al., 2005). Shromážděné vzorky jsou hodnoceny jak z hlediska produkčních schopností, tak i z hlediska jakosti. Na základě těchto informací lze vybírat materiály, vhodné pro využití ve šlechtění nebo v zemědělské praxi.

Materiál a metody

Vzorky zrna souboru genetických zdrojů pšenice jednozrnky, dvouzrnky a jarní špaldy byly získány ze sbírek Genové banky VÚRV Praha-Ruzyně (Tab. 1) a pěstovány v letech 2009 – 2011 v přesných polních pokusech na třech pokusných lokalitách: Praha – Uhřetěves, Praha - Ruzyně a České Budějovice. Jako kontrola byly použity dvě jarní odrůdy pšenice seté – SW Kadrilj a starší odrůda Jara. Pokusy byly vedeny v ekologickém systému, bez použití průmyslových hnojiv a pesticidů. Po sklizni pokusů byly odebrány vzorky zrna pro jakostní hodnocení. Byl stanoven obsah N-látek v sušině zrna, obsah mokrého lepku v sušině zrna a Gluten Index, číslo poklesu a Zeleného test. Dále bylo hodnoceno zastoupení jednotlivých frakcí bílkovin prostřednictvím diskontinuální frakcionace bílkovinného komplexu dle Osborna, modifikace dle Michalíka (2002).

Tab. 1. Hodnocené genetické zdroje

Pšenice jednozrnka	Pšenice dvouzrnka	Pšenice špalda
<i>T. monococcum</i> (GEO)	Rudico (CZE)	<i>T. spelta</i> Ruzyně (CSK)
<i>T. monococcum</i> (ALB)	May-Emmer (CHE)	<i>T. spelta</i> Tabor 1 (CSK)
Schwedisches Einkorn (SWE)	<i>T. dicoccon</i> Tapioszele (HUN)	<i>T. spelta</i> Tabor 2 (CSK)
<i>T. monococcum</i> No. 8910 (DNK)	<i>T. dicoccon</i> Dagestan (RUS)	<i>T. spelta</i> VIR St. Petersburg (CSK)
	<i>T. dicoccon</i> Palestine (ISR)	<i>T. spelta</i> Bílá jarní (CSK)
	Weisser Sommer (DEU)	<i>T. spelta</i> Kew (GBR)
	<i>T. dicoccon</i> Brno (CSK)	<i>T. spelta</i> No. 8930 (DNK)
	<i>T. dicoccon</i> Tabor (CSK)	

Výsledky a diskuse

Z výsledků (Tab. 2) je zřejmé, že všechny hodnocené minoritní druhy jarní pšenice značně převýšily v obsahu N-látek v sušině zrna kontrolní odrůdy pšenice seté. Tyto výsledky jsou v souladu se závěry řady autorů, např. Michalové et al. (2003). Rozdíly mezi jednotlivými genetickými zdroji v rámci druhu však nebyly příliš velké, o čemž svědčí relativně nízké hodnoty variačních koeficientů (Tab. 3).

Tab. 2. Základní jakostní ukazatele zrna minoritních druhů jarní pšenice (2009 – 2011)

Ukazatel/ lokalita	Obsah N-látek (%)	Obsah mokrého lepku (%)	Gluten Index (%)	Zelenyho test (ml)	Číslo poklesu (s)
Pšenice jednozrnka					
Uhřetěves	18,4 ± 1,4	- *	- *	18,2 ± 8,5	282,9 ± 73,3
Ruzyně	16,2 ± 1,5	- *	- *	14,2 ± 7,5	338,1 ± 26,8
Č.Budějovice	17,1 ± 2,2	- *	- *	11,9 ± 7,0	322,0 ± 48,4
Pšenice dvouzrnka					
Uhřetěves	18,2 ± 2,3	- *	- *	16,1 ± 5,5	253,4 ± 98,2
Ruzyně	16,5 ± 2,1	- *	- *	15,7 ± 6,2	226,0 ± 55,2
Č.Budějovice	16,9 ± 1,9	- *	- *	12,0 ± 3,0	276,4 ± 81,7
Pšenice špalda					
Uhřetěves	17,5 ± 1,8	42,2 ± 7,8	42,0 ± 10,8	35,3 ± 8,1	288,6 ± 44,3
Ruzyně	16,3 ± 2,2	39,2 ± 5,7	47,6 ± 15,2	30,6 ± 6,5	301,0 ± 38,9
Č.Budějovice	16,0 ± 1,1	38,6 ± 3,6	49,1 ± 18,8	28,7 ± 8,0	303,6 ± 52,7
Kontrolní pšenice setá					
Uhřetěves	12,2 ± 1,5	25,8 ± 7,3	72,3 ± 17,3	44,1 ± 7,7	269,0 ± 1,4
Ruzyně	10,8 ± 1,8	23,5 ± 5,9	59,6 ± 10,8	38,9 ± 5,4	318,5 ± 32,1
Č.Budějovice	10,9 ± 1,3	23,8 ± 6,9	66,8 ± 7,3	40,0 ± 12,0	293,3 ± 72,6

* obtížně separovatelný lepek, výsledky nekompletní

Tab. 3. Hodnoty variačních koeficientů (Vk %) (2009 – 2011)

Ukazatel/ lokalita	Obsah N-látek	Obsah mokrého lepku	Gluten Index	Zelenyho test	Číslo poklesu
Pšenice jednozrnka					
Uhřetěves	7,6	- *	- *	46,7	25,9
Ruzyně	9,3	- *	- *	52,8	7,9
Č.Budějovice	12,9	- *	- *	58,8	15,0
Pšenice dvouzrnka					
Uhřetěves	12,6	- *	- *	34,2	38,8
Ruzyně	12,7	- *	- *	39,5	24,4
Č.Budějovice	11,2	- *	- *	25,0	29,6
Pšenice špalda					
Uhřetěves	10,3	18,5	25,7	22,9	15,3
Ruzyně	13,5	14,5	31,9	21,2	12,9
Č.Budějovice	6,9	9,3	38,3	27,9	17,4
Kontrolní pšenice setá					
Uhřetěves	12,3	28,3	23,9	17,5	5,3
Ruzyně	16,7	25,1	18,1	13,9	10,1
Č.Budějovice	11,9	28,9	10,9	30,0	24,8

* obtížně separovatelný lepek, výsledky nekompletní

Lepek pšenice jednozrnky a dvouzrnky byl silně tažný, málo pružný a u některých genotypů tak roztékavý, že se ho nedařilo pomocí Glutomaticu vypírat. U pšenice špaldy byl lepek podstatně kvalitnější.

Sedimentační index – Zelenyho test a Gluten Index indikují pekařskou kvalitu lepku. Hodnocené minoritní druhy pšenice, zejména jednozrnka a dvouzrnka, dosáhly v průměru ve

srovnání s kontrolními odrůdami pšenice seté, ale i ve srovnání se špaldou výrazně nižších hodnot Zelenyho testu. Nízké hodnoty Zelenyho testu naznačují omezené možnosti využití jednozrnky a dvouzrnky, zejména pro výrobu kynutých těst (Konvalina et al., 2008). Jsou však velmi vhodné pro výrobu mnoha druhů nekynutých výrobků (Marconi, Cubadda, 2005). U Zelenyho testu minoritních druhů pšenice jsme však zaznamenali vysokou variabilitu mezi jednotlivými genetickými zdroji, což naznačuje značné možnosti výběru (selekce) na jakost lepku. Jak již bylo uvedeno, v obsahu N-látek v sušině zrna se jednotlivé genetické zdroje příliš nelišily, což znamená, že možnosti výběru u tohoto znaku jsou omezenější.

Číslo poklesu dosahovalo v průměru vysokých hodnot u všech hodnocených druhů pšenice a zpravidla výrazně přesahovalo požadavek na min. hodnotu čísla poklesu pšenice potravinářské – 220 s. Výjimku tvořily některé genotypy pšenice dvouzrnky, které se na lokalitách a v ročnících s vyššími srážkami v době tvorby zrna a dozrávání vyznačovaly vyšším porůstáním.

Z hodnocení zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí (Tab. 4) je patrné, že kontrolní pšenice setá dosáhla na všech hodnocených lokalitách o cca 5 – 10 % nižšího zastoupení nutričně cenných albuminů a globulinů, než hodnocené minoritní druhy pšenice (u nich byl podíl albuminů a globulinů poměrně vyrovnaný a pohyboval se v průměru mezi 25 – 30 %). To je o něco méně, než uvádí Marconi, Cubadda (2005), podle kterých se podíl albuminů a globulinů u pluchatých druhů pšenice, např. dvouzrnky, pohybuje zpravidla mezi 30 – 39 %. Na druhé straně, u námi hodnocených minoritních druhů pšenice jsme zjistili poměrně vysoký podíl tzv. nerozpustného zbytku (u minoritních druhů pšenice v průměru mezi 11 – 22 %, u kontrolních odrůd pšenice seté pouze mezi 4 – 10 %).

Tab. 4. Zastoupení jednotlivých frakcí bílkovin v zrnu minoritních druhů pšenice

Lokalita	Zastoupení albuminů + globulinů (%)	Zastoupení gliadinů (%)	Zastoupení gluteninů (%)	Nerozpustný zbytek (%)
Pšenice jednozrnka				
Uhřetěves	29,36 ± 2,03	27,56 ± 3,07	26,19 ± 2,89	16,89 ± 3,37
Ruzyně	25,00 ± 2,89	24,64 ± 6,40	30,07 ± 3,54	20,30 ± 5,02
Č. Budějovice	26,65 ± 5,50	26,68 ± 2,43	28,16 ± 1,79	18,51 ± 7,12
Pšenice dvouzrnka				
Uhřetěves	30,53 ± 2,12	29,90 ± 3,20	28,29 ± 4,26	11,28 ± 3,27
Ruzyně	26,62 ± 1,43	29,43 ± 6,96	29,74 ± 5,73	15,27 ± 7,16
Č. Budějovice	26,77 ± 1,85	29,08 ± 6,90	26,90 ± 5,20	22,26 ± 6,32
Pšenice špalda				
Uhřetěves	29,42 ± 0,99	30,78 ± 3,97	28,95 ± 3,64	11,37 ± 2,14
Ruzyně	26,22 ± 2,76	31,06 ± 4,01	29,06 ± 3,56	14,23 ± 3,77
Č. Budějovice	25,92 ± 4,46	30,26 ± 4,83	31,04 ± 3,18	13,05 ± 8,02
Kontrolní pšenice setá				
Uhřetěves	21,29 ± 1,46	33,75 ± 0,76	36,34 ± 1,24	8,63 ± 4,46
Ruzyně	21,37 ± 0,37	33,77 ± 2,18	40,49 ± 2,70	4,38 ± 0,14
Č. Budějovice	20,06 ± 0,01	33,64 ± 0,21	35,65 ± 2,46	10,66 ± 2,26

Podle Prugara, Hrašky (1986) tvoří tyto bílkoviny, které zůstaly po aplikaci jednotlivých rozpouštědel nerozpouštěné, cca 10 % podíl (u pšenice seté). Nerozpustný zbytek tvoří bílkoviny, které mají velmi příznivé složení aminokyselin, blízké se albuminům a globulinům. Z našich výsledků je tedy zřejmé, že i zastoupení těchto nutričně cenných bílkovin bylo v minoritních druzích pšenice vyšší než v kontrolních odrůdách pšenice seté. Z hodnocení zastoupení zásobních bílkovin vyplynulo, že kontrolní odrůdy pšenice seté se ve srovnání s minoritními druhy pšenice vyznačovaly mírně vyšším zastoupením gliadinů (v průměru cca 33 %, zatímco minoritní druhy pšenice mezi 24 – 31 %) a výrazněji vyšším zastoupením gluteninů (v průměru 35 – 40 %, zatímco minoritní druhy pšenice 26 – 30 %).

Při hodnocení možností využití minoritních druhů pšenice je ovšem zapotřebí zohlednit i jejich produkční schopnost. V našich pokusech výnosy zrna kontrolních odrůd pšenice seté dosahovaly v průměru cca 5,5 t.ha⁻¹. Jarní špaldy dosáhly v průměru cca 60 - 70 % výnosu kontrolních odrůd, dvouzrnky v průměru cca 50 - 55 % výnosu kontrolních odrůd. Nejnižších výnosů dosahovala pšenice jednozrnka (cca 40 % výnosu kontrolních odrůd pšenice seté).

Závěr

Hodnocené minoritní druhy pšenice si udržely i v podmínkách ekologického zemědělství, bez hnojení průmyslovými hnojivy, svůj specifický charakter jakostních ukazatelů, zejména vysoký obsah bílkovin. V tomto ukazateli výrazně převýšily kontrolní odrůdy pšenice seté. Pekařská kvalita lepku však byla, zejména u pšenice jednozrnky a dvouzrnky v průměru nízká, o čemž svědčí velmi nízké hodnoty Zeleného testu. V tomto znaku však hodnocené genotypy v rámci jednotlivých druhů vykazovaly poměrně značnou variabilitu, což naznačuje možnosti selekce na jakost lepku.

Výsledky hodnocení frakční skladby bílkovin vcelku potvrdily již známé závěry o vyšší nutriční, ale horší technologické (zejména pekařské) kvalitě minoritních druhů pšenice. Lze je využít zejména pro nekynuté a celozrnné výrobky, jako přídavek do těstovin, součást snídaňových cereálií apod.

Výzkum byl podpořen projektem NAZV MZE ČR QH82272

Použitá literatura

- Konvalina, P. et al., 2008. Quality parameters of emmer wheat landraces. *Journal of Central European Agriculture*, 9(3):539-546
- Marconi, M., Cubadda, R., 2005. Emmer wheat. In: Abdel-Aal, E.S.M., Wood, P. (Eds.): *Speciality grains for food and feed*. Amer. Assoc. of Cereal Chem., U.S.A., pp. 63-108
- Michalík, I. (2002): Unifikovaná metóda diskontinuálnej frakcionácie bielkovinového komplexu zrna obilnín. *Polnohospodárstvo*, 48 (7):333-341
- Michalová, A. et al., 2003. Kvalita minoritních obilnin a pseudoobilnin. Sb. konf. „Kvalita rostlinné produkce“, VÚRV, s. 177-183
- Prugar, J., Hraška, Š. (1986): *Kvalita pšenice*. Příroda Bratislava, 220 s.
- Stehno, Z. et al., 2005. Development and structure of wheat collection in the Res. Institute of Crop Production, Prague. *Czech J. Genet. Plant Breed., Spec. Issue*, 41:98-200

Kontaktní adresa 1. autora:

Doc.Ing. Ivana Capouchová,CSc

Katedra rostlinné výroby FAPPZ, ČZU v Praze, 165 21 Praha 6 - Suchbát

e-mail: capouchova@af.czu.cz

R 5**ČESKÉ PIVO - HISTORIE A SOUČASNOST**

Dostálek Pavel

Ústav biotechnologie, VŠCHT Praha

Abstrakt

Pivovarství patří k nejstarším biotechnologickým výrobám na světě, jež člověk postupně poznával a zdokonaloval – od primitivní domácí přípravy, přes řemeslnou výrobu až k dnešní moderní produkci. Výroba piva a sladu i pěstování surovin pro jeho přípravu mají v českých zemích hlubokou tradici a Čechy a čeští odborníci sehráli významnou roli v celosvětovém vývoji tohoto oboru. Hlavním přínosem byl vznik světového standardu plzeňského piva, piva spodně kvašeného s výraznou hořkostí a vyšším zbytkovým extraktem v polovině 19. století. Nové technologie a vědecké poznatky stály i tehdy v 19. století u zrodu českého piva. Jak se pak další technický rozvoj projevil na kvalitě piva a jaké jsou tendence ve výrobě piv plzeňského typu dnes v ČR a ve světě? Na tyto otázky se snaží najít odpovědi tato přednáška.

Vznik „Českého piva“

První zpráva o výrobě piva v českých zemích se váže k Břevnovskému klášteru v Praze. Uvádí se, že v roce 993 vyráběli mniši pivo a víno. Pravděpodobně nejstarším dokladem o pěstování chmele na našem území je nadační listina knížete Břetislava I. (1034-1055), kterou byl kapitule ve Staré Boleslavi udělen desátek z chmele. Pivo v té době bylo součástí stravy a převažovaly svrchně kvašená zejména pšeničná piva. V 18. století do pivovarství vnesl řád legendární sládek Poupě. Spodní kvašení bylo bavorským vynálezem, který se v Čechách uplatnil v 19. století, hlavně založením Prazdroje v roce 1842. V tomto roce se narodil asi nejúspěšnější typ piva na světě – světlý ležák. Tím byla odstartována zlatá éra českého pivovarství. V českých zemích začaly vznikat další průmyslové pivovary, které začaly používat technologii spodního kvašení a vyrábět světlý ležák. Tento úspěšný koncept byl pak kopírován i do dalších zahraničních pivovarů a tak byla sláva českého piva rozšířena do celého světa. První a druhá světová válka vedla k omezení výroby a po 2. světové válce izolace Československa vedla k tomu, že typ piva byl konzervován a docházelo k velmi pozvolné modernizaci československých pivovarů. Po „sametové“ revoluci v roce 1989 pak došlo k velmi rychlé modernizaci pivovarů a jejich převážné privatizaci. Tyto pivovary však dodnes vyrábějí typ piva, který odpovídá světlému ležáku plzeňského typu. Protože toto pivo je unikátní v některých základních parametrech, udělila v roce 2008 Evropská komise výrobkům českých a moravských pivovarů chráněné zeměpisné označení „České pivo“. Toto označení platí pro výrobky s typickými analytickými a organoleptickými vlastnostmi, vyráběné na území Čech a Moravy z domácích surovin, se specifickými prvky technologie a využitím tradičních znalostí českých sládků předávaných z generace na generaci. Základním druhem piva vyráběného v ČR je světlý ležák tzv. českého (plzeňského) typu vyráběný technologií dekokčního rmutování a spodního kvašení s dobrou plností, výraznou hořkostí a dobrou pěnivostí. V zahraničí je spektrum nápojů označovaných jako pivo mnohem širší a také variabilita použitých technologií je značná.

Suroviny pro „České pivo“ (pivo plzeňského typu)

Finální výrobek pivovarského průmyslu - pivo - je nápoj připravený ze sladu, chmele a vody zkvašením kulturními pivovarskými kvasinkami.

Voda je ve sladařském a pivovarském průmyslu důležitou surovinou, neboť přímo ovlivňuje kvalitu piva a má i jinak široké uplatnění a spotřebuje se jí celkově velké množství. Dříve byly pivovary a sladovny zásobovány téměř výhradně z vlastních zdrojů pivovarských studní. Se stoupající spotřebou a s poklesem hladiny podzemních vod však vyvstala nutnost využívat i další zdroje vod, tj. pramenité vody, povrchové vody a vody z městských vodovodních řadů. Z pivovarského hlediska je důležité, že některé ionty svými reakcemi s fosforečnany sladu způsobují snížení pH, čili zvyšují kyselost rmutů, sladiny a mladiny. Takto působí především ionty

vápníku a částečně i hořčíku pozitivně na činnost enzymů při rmutování. Na druhé straně hydrogenuhličitanové a uhličitanové ionty působí opačně, zvyšují pH, tudíž snižují kyselost a působí negativně na varní proces. Pro výrobu světlých piv je vhodná měkká voda s menším podílem obsahu hořčíku a přechodné tvrdosti. Pro tmavá piva nevádí i o něco tvrdší voda. Varní voda nemá zásadně obsahovat alkalické uhličitany, chlór a příliš železa, manganu a dusičnanů. Má splňovat normu pro pitnou vodu. Podle stupně znečištění se povrchové, pramenité a výjimečně i spodní vody čistí, popřípadě se upravuje složení varní vody, některým z následujících procesů: odstranění suspendovaných látek, odstranění nežádoucích rozpuštěných látek, odstranění mikroorganismů neboli dezinfekce. Používají se postupy mechanické, fyzikální, chemické a u odpadních vod i biologické. Prakticky se provádí nejčastěji čištění čiřením s následnou filtrací, odželezování a odmanganování, denitrifikace, odstraňování oxidu uhličitého neboli odkyselení, dezinfekce či sterilace a eventuálně i měkčení či odsolování varní vody.

Slad jako výchozí surovina se vyrábí ve sladovnách ze sladovnického ječmene. Ječný slad se začal používat pro výrobu piva v českých zemích od roku 1750. Nejdůležitější surovinou pro výrobu českého piva je světlý slad plzeňského (českého) typu. Cílem sladování je vyrobit řízeným procesem klíčení a hvozdnění z ječmene slad, obsahující potřebné enzymy a aromatické i barevné látky nezbytné pro výrobu určeného druhu piva. Principem sladování je vytvoření optimálních podmínek pro klíčení ječmene, přičemž dochází v zrně k aktivaci a tvorbě technologicky důležitých enzymů, především cytolytických, proteolytických a amylolytických, při zamezení ztrát potlačením růstu. Tím vzniká tzv. zelený slad, který se následným hvozdněním, při kterém se působením zvýšené teploty vyvolají chemické reakce tvorby aromatických a barevných látek, přemění v hotový slad. Podle způsobu a techniky sladování se sladovny rozdělují na periodické humnové sladovny (klasické sladování), pneumatické bubnové a skříňové sladovny, polokontinuální sladovny typu posuvné hromady a na kontinuální sladovny pásové, tunelové či šachtové. Bez zřetele na výrobní postup a typ výrobního zařízení lze výrobu sladu rozdělit na pět základních úseků:

- příjem, čištění a skladování ječmene
- máčení ječmene
- klíčení ječmene
- sušení a hvozdnění zeleného sladu
- úprava odhvozdněného sladu, skladování a expedice

Jak se mohou moderní technologie negativně podílet na kvalitě sladu, ukázala aféra v Německu (SRN) v 70. letech minulého století. V této době totiž sladovny přešly z historicky používaného způsobu nepřímého ohřevu při hvozdnění na systém přímého ohřevu spaliny. Tento způsob je sice energeticky výhodnější než ohřev nepřímý, ale dochází u něj ke styku naklíčeného sladu s oxidy dusíku, které jsou přítomny ve spalínách. Protože v naklíčeném sladu jsou vždy přítomny aminy byly tak generovány tzv. nitrosaminy (hlavně N-nitrosodimethylamin, NDMA). Tato aféra donutila německé výrobce ke zpětnému přechodu na nepřímé ohřevy.

Chmel, jako jedna ze tří základních pivovarských surovin, je představován usušenými chmelovými hlávkami samičích rostlin chmele evropského (*Humulus lupulus* var. *europaeus*). Poskytuje pivu typickou hořkou chuť, přispívá k tvorbě charakteristického aróma a má další technologicky důležité vlastnosti. V České republice se pěstuje chmel na vysoké úrovni a asi třetina z celkové produkce se vyváží do celého světa. Chmele pěstované v žatecké oblasti patří mezi vysoce kvalitní jemné, aromatické odrůdy chmele. Pro kvalitu chmele je rozhodující obsah pivovarsky cenných složek, zejména pryskyřic, polyfenolů a silic. Chmelové pryskyřice jsou původcem hořké chuti piva. Chmelové polyfenoly se uplatňují v průběhu technologie při srážení vysokomolekulárních bílkovin a pozitivně působí jako antioxidanty při chmelovaru. Chmelové silice sice z větší části při výrobě piva vytěkají při chmelovaru, ale přesto část, která zůstane v mladině a přejde až do hotového piva, vytváří jeho aróma. Z důvodů nízkého využití cenných pivovarských složek chmele při zpracování hlávkového chmele a chemické nestálosti většiny

obsahově cenných složek, se dnes více než dvě třetiny produkce chmele ve světě zpracovávají na chmelové výrobky. Chmel lze zpracovat mechanickými úpravami, fyzikálními úpravami a chemickými postupy. Nejjednodušší a nejstarší formou zpracování chmele je jeho lisování. Mechanickou úpravou se připravují granulované chmele. Extrakcí ethanolem nebo superkritickým oxidem uhličitým se dá připravit chmelový extrakt. Další moderní technologií, která je velmi problematická z důvodu použití produktů v českém pivu je výroba a použití isomerovaných a posléze hydrogenovaných chmelových extraktů. Tyto extrakty lze použít k tzv. studenému chmelení až do hotového piva, neboť jsou zpravidla dokonale rozpustné. Katalytickou chemickou redukcí surových nebo přečištěných iso- α -hořkých kyselin, v nichž se redukuje karbonylová skupina, se připravují preparáty redukovaných iso- α -hořkých kyselin, nazývaných též ρ -iso- α -hořké kyseliny nebo dihydro-iso- α -hořké kyseliny. Hydrogenací se připravují tetrahydro-iso- α -hořké kyseliny s hydrogenovanými dvojnými vazbami postranních řetězců v molekule. Nejhlubší hydrogenace vede k hexahydro-iso- α -hořkým kyselinám, v nichž jsou hydrogenovány všechny výše uvedené nestabilní části molekuly. Tyto látky jsou na rozdíl od iso- α -kyselin odolné k fotoizomeraci, ale jejich hořkost je odlišného charakteru a tyto látky působí rovněž na stabilizaci pěny.

Technologie pro výrobu „Českého piva“ (piv plzeňského typu)

Pivo se vyrábí v pivovaru a technologie sestává ze tří výrobních úseků, zahrnujících řadu složitých mechanických, fyzikálně chemických a biochemických procesů:

- výroba mladiny
- kvašení mladiny a dokvašování mladého piva
- závěrečné úpravy a stáčení zralého piva

První úsek se v moderních pivovarských učebnicích nazývá horká fáze a druhé dva studená fáze. První soubor operací v pivovarském procesu vede k výrobě mladiny. Jednotlivé dílčí kroky tohoto procesu jsou kondicionování a šrotování, vystírání a rmutování, scezování a vyslazování, chmelovar. Po chmelovaru je nutné mladinu upravit v technologickém bloku tzv. mladinové linky tak, aby byla připravena k zakvašení. Mladinová linka sestává z následujících technologických kroků odloučení hrubých kalů, chlazení mladiny, separace jemných kalů a provzdušnění. Výroba mladiny je v pivovaru realizována na varně. Od historických varen se dnes varny liší materiálem nádob, kdy již nejsou z mědi, ale z nerez, liší se i tvarem a jsou dnes automatizovány s použitím moderních systémů řízení, včetně automatické sanitace. Pro spodní kvašení se používá spodní pivovarská kvasinka, dnes označovaná jako *Saccharomyces pastorianus*. Spodní kvašení je rozděleno na dvě operace: hlavní kvašení a dokvašení. Při hlavním kvašení je teplota 6 až 12 °C a dokvašování při 1 až 3 °C. V zahraničí již od 50. let, v ČR od konce 80.let byly zaváděny do výroby velkokapacitní tzv. cylindrokónické tanky (CKT) pro kvašení a dokvašení piva. Tato technologie je dobře slučitelná s výrobou českého piva, jen pokud je uplatněna v dvoufázovém uspořádání – hlavní kvašení v jednom otevřeném tanku, dokvašení pod tlakem v zahrazeném tanku při nízké teplotě. Po dokvašení se pivo filtruje, případně koloidně stabilizuje (většinou sorpční odnímání prekurzorů koloidního zákalu při stabilizační filtraci piva sorbenty). Pivo se pak pasteruje buď průtokově nebo v tunelovém pasteru (v obalu). Pivo pak je stáčeno do sudů, lahví (skleněných nebo plastových) a plechovek. V zahraničí je velmi rozšířená tzv. HGB (High Gravity Brewing) technologie, kdy se vaří silnější mladiny (18 až 24%), které projdou kvasným cyklem a na žádanou hodnotu původní koncentrace mladiny se v pivu upravují ředěním odplyněnou a odsolenou vodou a provede se dosycení oxidem uhličitým.

Závěr – České pivo a moderní technologie

Obecně lze říci, že moderní technologie dnes umožňují výrobu českého piva ve stabilní kvalitě. Z moderních technologií, které toto umožňují je to především automatizace a řízení procesů, hladké nerezové povrchy a jejich automatická sanitace. Zároveň by ale měly být

zachovány všechny atributy, kterým se vyznačuje české pivo. Je to především dekokční způsob rmutování z ječných sladů vhodných pro české pivo, použití českého chmele v závěrečných fázích chmelovaru a dvoustupňové kvašení na spodní způsob. Některé technologie – infuzní rmutování, nové chmelové preparáty (redukované iso- α -kyseliny) a HGB nejsou pro výrobu českého piva vhodné.

Literatura

Nařízení rady (ES) č. 510/2006 CHZO „ČESKÉ PIVO“ EK č.: CZ/PGI/005/00375/14.10.2004

Basařová, G., Čepička, J. (1986) Sladařství a pivovarství. SNTL Praha, 252 stran

Basařová, G., Šavel, J., Basař, P., Lejsek, T. (2010) Pivovarství teorie a praxe výroby piva. Vydavatelství VŠCHT Praha, 904 stran

Čepička, J., Karabín, M. (2002) Polyfenolové látky piva - přirozené antioxidanty. Chem. listy, 96, str. 90–95.

Dostálek P.: Sladařství – sylabus předmětu, Ústav biotechnologie, VŠCHT Praha. Poslední aktualizace: 31.7.2012. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/kch/download/sylaby/sladarstvi.pdf>

Dostálek P.: Pivovarství – sylabus předmětu, Ústav biotechnologie, VŠCHT Praha. Poslední aktualizace: 31.7.2012. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/kch/download/sylaby/pivovarstvi.pdf>

Kosař, K. a kolektiv autorů (2000) Technologie výroby sladu a piva. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s. Praha, 393stran

Kunze, W. a kolektiv autorů (2010) Technology Brewing and Malting. 4th updated edition . Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei Berlin, stran 1047

R 6**MOŽNOSTI HODNOCENÍ KVALITY A AUTENTICITY HROZNŮ A VÍNA**

Pavloušek P.

Ústav vinohradnictví a vinařství, Zahradnická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Valtická 337, Lednice, 691 44, Česká republika.

E-mail: pavel.pavlousek@mendelu.cz**Souhrn**

Hrozny a víno patří mezi produkty s velmi úzkým vztahem k místu svému původu - terroir. Kvalitní hrozen je základem výroby kvalitního vína. Komplexní vyhodnocení kvality hroznů s ohledem na předpokládaný typ vína je cílem každého moderního vinaře. Při hodnocení kvality hroznů se klade velký důraz na tradiční parametry: cukernatost, pH a titrovatelné kyseliny, ale také na nověji využívané parametry jako jsou profily organických kyselin a obsah asimilovatelného dusíku. Kvalita vína je v České republice dlouhodobě postavená na cukernatosti hroznů. V posledním období však vstupuje do hodnocení kvality vína fenomén terroir. Vinaři kladou stále větší důraz na původ hroznů a využívají moderní analytické postupy pro prokázání odlišnosti jednotlivých terroir. Hodnocení autenticity vína je možné provádět na základě fenolických látek, aromatických látek, minerálních látek, izotopových poměrů nebo také aminokyselin. Na modelové odrůdě Ryzlink rýnský jsme prováděli hodnocení na základě vinařských podoblastí, ale také jednotlivých vinařských tratí. Profil fenolických a minerálních látek se prokázal jako jeden z možných markerů autenticity, který byl úspěšně použitý pro rozlišení vín na základě geografického původu. Fenomén terroir využívají vinaři v České republice také v marketingu vín.

Klíčová slova: réva vinná, víno, kvalita, autenticita.

The possibilities of the assessment quality and authenticity of grapes and wine**Summary:**

Grapes and wine are among the products with a very close relationship to his place of origin - terroir. Grape quality is the basis of quality wine production. A comprehensive evaluation of the quality of grapes with regard to the expected type of wine is the goal of every modern winemaking. When evaluating the quality of grapes, places great emphasis on the traditional parameters: sugar content, pH and titratable acids, but also more recently used parameters such as profiles of organic acids and assimilable nitrogen content. The quality of wine in the Czech Republic for a long built on sugar content of grapes. Recently, however, enter into the evaluation of the wine quality the terroir phenomenon. Winemakers put increasing emphasis on the origin of the grapes and make use of modern analytical techniques to demonstrate the differences between individual terroir. Rating authenticity of the wine can be made on the basis of phenolic compounds, aromatic compounds, minerals, isotope ratios, or amino acids. The model variety Riesling evaluation was performed for evaluation viticultural terroirs. Phenolic profiles and minerals have been demonstrated as a possible marker of authenticity, which was successfully used to differentiate wines based on geographical origin. The phenomenon of terroir use winemakers in the Czech Republic also in marketing wines.

Key words: grapevine, wine, quality, authenticity

Réva vinná (*Vitis vinifera* L.) je nejrozšířenější kulturní plodinou v celosvětovém měřítku. Areál jejího pěstování se nachází mezi 52°s.š. a 40°j.š. Víno, jako hlavní produkt vyráběný z hroznů, má velmi úzký vztah ke svému geografickému původu. Termíny autenticita a traceabilita jsou proto velmi důležité pro výrobce a konzumenty vína.

Víno patří také mezi potravinářské produkty, které velmi často podléhají falšování z pohledu odrůdy nebo geografického původu. Jedním z nejvíce diskutovaných témat je proto vždy spor o správnou definici kvality hroznů a vína. V České republice má velká většina producentů hroznů i výrobců vína na tento problém velmi konzervativní názory a více než 90% českých a moravských vinařů vychází z představy, že kvalita hroznů je určena jejich cukernatostí a že právě tato skutečnost

pak určuje konečnou kvalitu vína. Hoj a Pretorius (2004) uvádějí, že kvalita je dosažena pouze tehdy, uspokojuje-li výsledný produkt požadavky zákazníků a spotřebitelů.

Autenticita potravinářských výrobků je také významnou hodnotou pro spotřebitele. Je zejména důležitá pro víno, které je ovlivňované mnoha faktory vztahujícími se k určité produkční oblasti: odrůda, půda a podnebí, technologie výroby vína. V mnoha vinařských zemích jsou přísná pravidla pro definování geografického původu vína podle regionu (Cynkar et al., 2010). Původ vína je velmi často považován za indikátor kvality a konzumenti vína velmi často požadují informace o regionu původu a často je upřednostňují (Atkin, Johnson, 2010).

Při stanovení autenticity vín se využívá chemická analýza a chemometrické metody. Víno je složené z velkého množství sloučenin, z nichž některé mohou sloužit jako chemometrické markery pro stanovení geografického původu vína. Jednou ze základních aplikací chemometrických metod ve vinařství, je rozlišení a klasifikace vzorků vín na základě jejich chemického složení a podle geografického původu, odrůdy, nebo kvality (De Villiers et al., 2005).

1. Kvalita hroznů

Kvalita a zralost hroznů nelze definovat pouze jedním kvalitativním parametrem. Musí jít vždy o kombinaci hlavních kvalitativních parametrů hroznů. Mezi základní parametry, které umožní definovat zralost hroznů a termín sklizně patří:

- cukernatost
- obsah titrovatelných kyselin, obsah kyseliny vinné a jablečné.
- Hodnota pH.
- Obsah asimilovatelného dusíku v moštu.
- Aromatická zralost hroznů.
- Fenolická zralost hroznů.

Fyziologická a technologická zralost spolu souvisí. Hrozen, který je technologicky zralý by měl být zpravidla zralý i po stránce fyziologické. Při fyziologické zralosti získává slupka bobulí odrůdově typické zbarvení. Celá bobule se stává průhlednou a uvnitř bobule jsou velmi dobře patrná semena vybarvující se dohněda. Ve slupce modrých odrůd je vyšší obsah antokyanových barviv. Taniny se mění z hrubých, zelených a nevyzrálých na jemné a lehce nasládlé. Dochází také dřevnatění třapiny. Semena se velmi lehce oddělují od dužniny a nejsou spojená s dužninou. V bobulích začíná být dominantní odrůdově typické aroma. Hrozny mají vyšší podíl kyseliny vinné, než jablečné. Technologická zralost úzce souvisí s typem vína pro, který se dané hrozny sklízí. Určení zralosti vzniká jako souhra všech výše uvedených kvalitativních parametrů. Technologická zralost je optimální souhra cukernatosti, kyselin, hodnoty pH, aromatické a fenolické zralosti v hrozně. Někdy se nazývá také enologická zralost, protože na základě této zralosti hroznů je potřeba optimalizovat i enologické postupy při výrobě vína.

Jedním z klíčových parametrů kvality je v poslední době hodnota pH moštu a obsah asimilovatelného dusíku.

Hodnotu pH je možné definovat jako negativní logaritmus koncentrace vodíkových iontů v roztoku. Vyšší koncentrace volných vodíkových iontů znamená nižší hodnotu pH a naopak. V průběhu zrání hroznů se mění hodnota pH v rozsahu 2,80 – 3,80 a někdy i výrazněji v závislosti na odrůdě, ročníku a průběhu počasí. Tato změna nastává současně s akumulací cukrů a snižováním titrovatelných kyselin.

Není možné specifikovat závislost změny hodnoty pH na kyselinách v hroznech. Nelze proto jednoduše konstatovat, že například čím méně bude kyseliny jablečné, tím vyšší bude pH, i když se to často může potvrdit. Korelační závislosti, tzn. vzájemné vztahy ukazují, že u analýz hroznů uvedených v tomto článku závisí hodnota pH přibližně stejně na poměru kyseliny vinné a jablečné ($r=0,629$), kyselině vinné ($r=-0,718$) a kyselině jablečné ($r=-0,798$). Jako optimální je možné považovat hodnotu pH v rozsahu 3,1-3,3, maximálně 3,4. Hodnoty nižší nebo výrazně vyšší představují významná rizika. Velký význam má hodnota pH u bílých odrůd, protože v prostředí

moštu s pH 3,1-3,4 dochází k optimálnímu uvolňování aromatických látek do kvasícího moštu a vede k tvorbě bílých vín s výrazným květinovým a ovocným aroma.

Další velmi důležitý vliv je vztah k rozvoji mikroflóry na hroznech, v mošttech a vínech. Mošty s vysokou hodnotou pH (vyšší než 3,4) mají vyšší sklon k oxidaci, ztrácí se komplexnost, chuť a svěžest vína, co je velmi nebezpečné zejména u bílých moštů a vín. Mošty a následně vína s vysokým pH jsou mikrobiálně nestabilní a mají vyšší sklon ke kontaminaci divokými mléčnými baktériemi (*Lactobacillus*, *Pediococcus*), octovými baktériemi a kvasinkami rodu *Brettanomyces*. Vína mají následně sklon k tvorbě negativních chuťových a aromatických vjemů. Stabilita barviv u červených vín je nižší a taniny se stávají nerozpustnými.

Vysoká hodnota pH také zhoršuje čiření termolabilních bílkovin, což je velmi důležité u bílých vín. Vysoká hodnota pH snižuje účinnost aplikovaného oxidu siřičitého.

Hodnota pH je proto při stanovení termínu sklizně klíčová. Zcela ideální stav je sklízet hrozny při optimálním pH, což je samozřejmě velmi dobře možné. Další možností je potom drobná korekce pH (asi o 0,1) dodáním kyseliny vinné do moštu před kvašením. Jelikož, ale pH závisí na všech kyselinách a poměrech v moštu není ani tento přírůstek jistotou změny hodnoty pH. Hrozny s vysokou hodnotou pH je proto třeba co nejrychleji sklízet, zpracovat, odkalit a zahájit kvašení moštu.

Tabulka 1. Titrovatelné a celkové kyseliny a hodnota pH na stanovišti Lednice 10.10.2011

Odrůda	Hodnota pH	Titrovatelné Kyseliny (g/l)	Celkové kyseliny (g/l)
Ryzlink rýnský	3,31	8,98	12,4
Savilon	3,58	6,61	9,3
Hibernal	3,49	7,25	10,5
Ryzlink vlašský	3,97	6,37	9,6
Frankovka	3,25	7,39	10,7
Cabernet Sauvignon	3,32	9,29	12,9
Cerason	3,16	10,86	13,9
Laurot	3,09	11,50	14,7

Kvasinkami asimilovatelný dusík (YAN) je součtem primárních aminokyselin a amonných iontů v moštu. Jeho obsah se vyjadřuje v g/l. Obsah YAN, který je obvykle potřebný pro zabezpečení dobrého kvašení moštu představuje 140 mg/l. Dukes (2010) uvádí, že obsah YAN v rozmezí 250-300 mg/l je optimální pro výrobu bílých vín s výraznějším ovocným a květinovým aroma. U modrých hroznů nebývá problém s výší YAN neboť při maceraci se uvolňuje YAN ze všech částí bobule. Měření YAN v moštu umožní optimálně dávkovat výživu pro kvasinky a vyvarovat se vysokému množství dusíkatých látek v moštu, které se mohou negativně projevit na aromatickém charakteru bílých vín. Formaldehydová titrace je jednoduchou a rychlou metodou pro stanovení asimilovatelného dusíku v moštu. Metoda je založená na přidavku formaldehydu k uvolnění protonů následné titraci s NaOH do pH 8,00. Metoda měří volné aminokyseliny amonné ionty.

Hlavní složkou asimilovatelného dusíku (YAN) jsou primární nebo-li volné aminokyseliny. Volné aminokyseliny v moštu představují zdroj dusíku pro kvasinky, mléčné bakterie pro jablečno-mléčnou fermentaci a mohou být zdrojem tvorby aromatických látek.

Minerální dusík představovaný především amonnou formou (NH_4) se postupně se zrání hroznů snižuje a v okamžiku sklizně hroznů představuje 5-10% z celkového dusíku v hroznech. Amonné ionty jsou velmi důležitou součástí asimilovatelného dusíku, neboť jsou upřednostňované kvasinkami jako zdroj výživy. Obsah amonných iontů v moštu je v přímém vztahu k dusíku, který přijímá réva ve vinici. Hnojení dusíkem a přístupnost dusíku, např. z organické hmoty v půdě zvyšuje obsah amonných iontů v bobulích. Stines aj. (2000) uvádí následující zastoupení asimilovatelného dusíku v různých částech bobule: slupka (19-29%), dužnina (61-65%) a semena (10-15%). Za teplého a suchého počasí se v hroznech vytváří vyšší obsah bílkovin. Vysoký obsah

bílkovin v hroznech může způsobovat problémy s kvašením moštů a ve víně může vést k častějšímu výskytu bílkovinných zákalů.

2. Autenticita vína

Vína na základě geografického původu je možné klasifikovat podle profilu fenolických látek (Galgano aj., 2011, Li aj., 2011, Soto Vasquez aj., 2011), aromatických látek (Green aj., 2011), aminokyselin (Boulompasi aj., 2002), minerálních látek (Paneque aj., 2010, Pérez Trujillo aj., 2011), izotopových poměrů (Adami aj., 2010), nebo kombinace minerálních látek a izotopových poměrů (Dutra aj., 2011).

Modelové hodnocení autenticity vín na základě geografického původu (vinařské podoblasti) bylo provedené u odrůdy Ryzlink rýnský. Hodnoceno bylo celkem 36 přívlastkových vín ze 4 vinařských podoblastí: Mikulovské (a), Slovácké (b), Znojemské (c) a Litoměřické (d). Vína pocházela z ročníků 2005-2008. Výsledky byly vyhodnocené metodou kanonické diskriminační analýzy (CDA).

2.1. Analýza podle fenolických látek

U sledovaných vín byl vyhodnocený následující profil fenolických látek:

Hydroxybenzoové kyseliny – kyselina galová, kyselina protokatechuová, kyselina *p*-hydroxybenzoová, kyseliny vanilová, kyseliny syringová.

Hydroxyskořicové kyseliny – kyseliny kávová, kyselina kaftarová, kyselina *p*-kumarová, kyselina *p*-koutarová, kyselina ferulová, kyselina fertarová.

Stilbeny – *trans*-resveratrol, *cis*-resveratrol, *trans*-piceid, *cis*-piseid.

Flavan-3-oly – (+)-katechin, (-)-epikatechin.

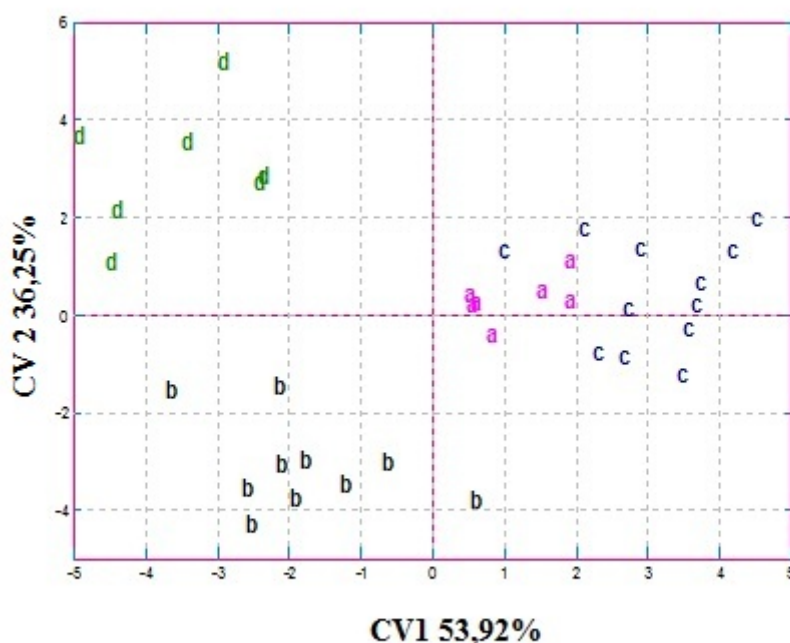


Diagram 1. Porovnání vín ze 4 vinařských podoblastí na základě profilu fenolických látek pomocí kanonické diskriminační analýzy

Výsledky ukazují velmi dobrou využitelnost profilu fenolických látek pro analýzu vín na základě geografického původu. Vysoce průkazně odlišné jsou podoblasti Slovácká (b) a Litoměřická (d). Nesprávně klasifikovaná jsou pouze 2 vína z podoblasti Znojemské (c), které vykazují podobnost s podoblastí Mikulovskou (a).

Jako sloučeniny s nejvyšší rozlišovací schopností, tzn. markery geografického původu byly zjištěny následující fenolické látky: kyselina protokatechuová, kyselina *p*-hydroxybenzoová, kyselina koutarová, *trans*-resveratrol, (+)-katechin a (-)-epikatechin.

Sloučeniny ze skupiny stilbenů byly zjištěny jako markery autenticity vín na základě geografického původu i u zahraničních vín. Při hodnocení chorvatských vín bylo zjištěné, že vzorky vín z Central and Southern Dalmatia mají nejvyšší obsah *trans*-resveratrol, zatímco vína z Istria mají nízký obsah. *Trans*-resveratrol byl potvrzený jako jeden z markerů geografického původu (Rastija et al., 2009), což bylo potvrzené také v této studii vín z České republiky.

Naproti tomu při porovnání italských a španělských vín byly jako marker geografického původu zjištěné zejména hydroxybenzoové kyseliny (Andreu-Navarro, et al., 2011), což se potvrdilo také v této studii.

2.2. Analýza podle minerálních látek

Prvky je možné využívat pro klasifikaci vín na základě geografického původu, protože propojují matečnou horninu, půdu a hrozny, díky jejich pohybu z horniny do půdy a z půdy do hroznů. Multielementární složení vína je ovlivněné rozpustností anorganických sloučenin v půdě a proto prvky analyzované ve víně odráží geochemii půdy (Galgano et al., 2008).

V hodnocených vínech byly analyzované následující minerální látky: měď (Cu), železo (Fe), hořčík (Mg), sodík (Na), zinek (Zn), fosfor (P), draslík (K), vápník (Ca).

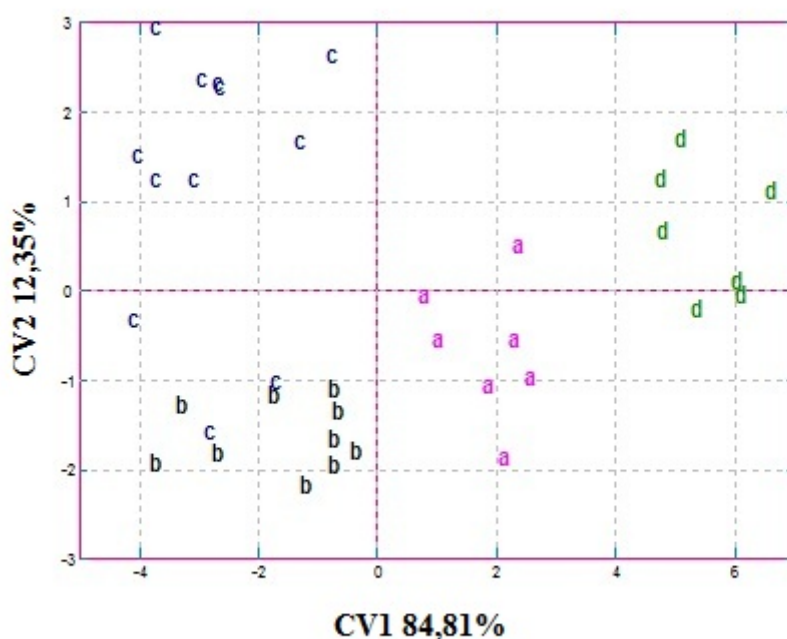


Diagram 2. Porovnání vín ze 4 vinařských podoblastí na základě profilu minerálních látek pomocí kanonické diskriminační analýzy

Na základě hodnocení minerálních látek došlo k velmi dobrému odlišení vín z podoblasti Mikulovské (a) a Litoměřické (d). Nesprávně klasifikovaná byla 2 vína z podoblasti Znojenské (c), která byla zařazená do Slovácké podoblasti (b).

Jako markery geografického původu, ze skupiny minerálních látek, byly zjištěné hořčík (Mg), sodík (Na), měď (Cu) a draslík (K). Některé z těchto sloučenin byly zjištěné jako markery geografického původu u vín z Centrálního Balkánu (Razic a Onija, 2010) nebo z jižní Itálie (Galgano et al., 2008).

3. Pohled do budoucnosti

Kvalita českých a moravských vín má výrazně stoupající tendenci. V posledních dvou letech stoupá zájem vinařů o monitoring kvality hroznů. Vinaři zjišťují, že kvalita není pouze cukernatost, ale především pH, kyseliny a asimilovatelný dusík.

Rovněž autenticity vín je středem zájmu. V České republice se stále zkonsumuje více vína, než jsme schopni vyrobit. Zájmem vinařů je proto zřetelné odlišení domácích a dovoзовých vín a zabránit tím klamání spotřebitele.

Hodnocení autenticity vín se také využívá při zvýraznění terroir jednotlivých viničních tratí. Průkopníkem v propagaci terroir ve svých vínech je bezpochyby Znovín Znojmo a.s., které věnuje největší pozornost charakterizaci viničních tratí a využití těchto poznatků ve vzdělávání svých zákazníků.

Použitá literatura

- Adami, L., Dutra, S.V., Marcon, A.R., Carnelli, G.J., Roani, C.A., Vanderlinde, R. (2010): Geographic origin of southern Brazilian wines by carbon and oxygen isotope analysis. *Rapid Commun. Mass. Spectrom.* 24: 2943-2948.
- Andreu-Navarro, A., Russo, P., Aguilar-Caballos, M.P., Fernández-Romero, J.M., Gómez-Hens, A (2011): Usefulness of terbium-sensitised luminescence detection for chemometric classification of wines by their content in phenolic compounds. *Food Chem* 124: 1753-1759.
- Atkin, T., Johnson, R (2010): Appellation as an indicator of quality. *Int. J. Wine Buss. Res.* 22: 42-61.
- Bouloumpasi, E., Soufleros, E.H., Tsarchopoulos, C., Biliaderis, C.G (2002): Primary amino acid composition and its use in discrimination of Greek red wines with regard to variety and cultivation region. *Vitis* 41: 195-202.
- Cynkar, W., Dambergs, R., Smith, P., Cozzolino, D (2010): Classification of Tempranillo wines according to geographic origin: Combination of mass spectrometry based electronic nose and chemometrics. *Anal Chim Acta* 660: 227-231.
- De Villiers, A., Majek, P., Lynen, F., Crouch, A., Lauer, H., Sandra, P (2005): Classification of South Africa red and white according to grape variety on the non-coloured phenolic content. *Eur Food Res Technol* 221: 520-528.
- Dukes, B. (2010): What is yeast assimilable nitrogen (YAN) and how much is needed? In: Butzke, C.E., *Winemaking problems solved*. Woodhead Publishing Limited, 62-64.
- Dutra, S.V., Adami, L., Marcon, A.R., Carnieli, G.J., Roani, C.A., Spinelli, F.R., Leonardelli, S., Ducatto, C., Moreira, M.Z., Vanderlinde, R (2011): Determination of the geographical origin of Brazilian wines by isotope and mineral analysis. *Anal Bioanal Chem* 401: 1571-1576.
- Galgano, F., Caruso, M., Perretti, G., Favati, F (2011): Authentication of Italian red wines on the basis of the polyphenols and biogenic amines. *Eur Food Res Technol* 232: 889-897.
- Galgano, F., Faretti, F., Caruso, M., Scarpa, T., Palma, A. (2008): Analysis of trace elements in southern Italian wines and their classification according to provenance. *Food Science and Technology*, 41: 1808-1815.
- Green, J.A., Parr, W.V., Breitmeyer, J., Valentin, D., Sherlock, R (2011): Sensory and chemical characterisation of Sauvignon blanc wine: Influence of source of origin. *Food Res Int* 44: 2788-2797.
- Hoj, P.B., Pretorius, I.S. (2004): Growing markets and delivering benefit to wine producers and consumers and consumers through research and innovation-a perspective and examples from Australia. *Wine Industry Journal* 19, 51-57.
- Li, Z., Pan, Q., Jin, Z., Mu, L., Duan, C (2011): Comparison on phenolic compounds in *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon wines from five wine-growing regions in China. *Food Chem* 125: 77-83
- Paneque, P., Álvarez-Sotomayor, M.T., Clavijo, A., Gómez, I.A. (2010): Metal content in southern Spain wines and their classification according to origin and ageing. *Microchem J* 94:175-179.
- Pérez-Trujillo, J.P., Conde, J.E., Pérez Pont, M.L., Camara, J., Marques, J.C. (2011): Content in metallic ions of wines from the Madeira and Azores archipelagos. *Food Chem* 124: 533-537.

- Rastija, V., Srećnik, G., Medić-Šarić, M. 2009: Polyphenolic composition of Croatian wines with different geographical origins. *Food Chem*, **115**, 54–60.
- Razic, S., Onija, A. (2010): Trace Element Analysis and Pattern Recognition Techniques in Classification of Wine from Central Balkan Countries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61: 506-511.
- Soto Vázquez, E., Rio Segade, S., Cortés Diéguez, S (2011): Classification of red and white wines by denomination of origin according to phenolic composition and colour characteristics and correlation with standard parameters. *Int J Food Sci Technol* 46: 542-548.

R 7**VLIV KONZUMACE SPECIÁLNĚ KRMENÉHO KAPRA NA LIPIDOVÝ PROFIL U KVO**

Adámková V.

Institut klinické a experimentální medicíny, Pracoviště preventivní kardiologie, Praha

Úvod

Zvýšená konzumace rybího masa je spojena s lepšími hodnotami tukového spektra i u vysoce rizikových nemocných s manifestní ischemickou chorobou srdeční. Krmná formule pro ryby může zásadně ovlivnit kvalitu produkovaného masa. Pro obohacení krmných formulí jsou užívány hlavně semena s vyšším obsahem omega-3 mastných kyselin (4).

Sledování vlivu konzumace masa sledovaně krmeného kapra jsme nabídli nemocným po chirurgickém řešení ischemické choroby srdeční v IKEM, kontrolní skupinu tvořili nemocní operovaní pro tutéž diagnózu mimo IKEM. Všichni nemocní byli dále léčeni v Lázních Poděbrady (1).

Metodika

Pro potřeby klinického testování byla vytvořena technologie chovu kapra obecného, kde chov, odlov i testování rybího masa proběhly v několika etapách. Nejprve jsme testovaly vliv konzumace kapra příkrmovaného běžným způsobem, který také sloužil jako kontrola pro další skupiny. Další skupin a ryb byla příkrmována speciálně vyvinutou krmnou směsí KP Len pro zvýšení obsahu omega 3 mastných kyselin. Na testovacích rybnících byly ryby příkrmovány třikrát týdně. Příkrmování nebylo prováděno *ad libitum*, ale podle sestaveného krmného plánu, kde byla zohledněna velikost obsádky a požadavek na zdvojnásobení hmotnosti násadových ryb.

Výlovy rybníků byly provedeny v polovině září. Průměrná hmotnost ryb při výlovu byla 2,3 kg ve všech sledovaných skupinách. Ryby byly po dobu dvou týdnů sádkovány a poté převezeny na zpracovnu ryb, kde z nich byly vyrobeny filety, zamrazeny a předány do Lázní Poděbrady, kde byly připraveny podle vytvořených receptur. Klinické testy sledovaných ukazatelů byly prováděny v laboratořích IKEM Praha. Dobrovolníky byli nemocní po operační léčbě ischemické choroby srdeční, operovaní v IKEM Praha. Kontrolní skupinou byli nemocní operovaní pro tutéž diagnózu, léčeni rovněž v Lázních Poděbrady z jiných pracovišť. Sledování nemocných z IKEM dále provádí další pracoviště IKEM.

Klinický výzkum

Klinický výzkum byl nabídnut nemocným po kardiorevaskularizační operaci ischemické choroby srdeční. Nemocní byli rozděleni podle konzumace typu krmeného kapra do skupin a konzumovali 2x týdně 200 g filet (ze speciálně krmeného kapra) po dobu 4 týdnů. Kontrolní (skupinu C) k nim tvořili pacienti vybraní podle věku, pohlaví a hmotnosti.

Skupina A : 27 osob obou pohlaví, průměrný věk $61,8 \pm 10,61$ roků a skupina B 30 osob, $67,4 \pm 6,83$ roků). Kontrolní skupina nemocných („C“ 38 pacientů po stejném typu výkonu, na běžné dietě podávané v rámci sekundární prevence ICHS, srovnatelného věku).

Hodnotili jsme celkový cholesterol, triglyceridy, high i low density cholesterol (HDL, LDL), krevní tlak a tepovou frekvenci. Laboratorní analýzy byly provedeny v rutinní biochemické laboratoři, měření krevního tlaku rtuťovým sfygmomanometrem, za standardních kautel. Parametry byly stanoveny na počátku lázeňské léčby a po 4 týdnech. Formule s vyšším obsahem semenných produktů je označena A. Mezi skupinami nebyl rozdíl v energetickém příjmu ani v jiném režimu lázeňské léčby.

Výsledky

Skupina A : celkový cholesterol: $-0,44 \pm 0,134$, triglyceridy $-0,7 \pm 0,87$, HDL $+0,3 \pm 0,25$ mmol/l, LDL n.s.

Skupina B: celkový cholesterol $+0,21 \pm 1,0$, triglyceridy $+0,4 \pm 0,55$, HDL $+0,2 \pm 0,17$ mmol/l, LDL n.s.

Skupina C: celkový cholesterol $+0,32 \pm 0,98$ triglyceridy $+0,3 \pm 0,31$, HDL $+ 0,2 \pm 0,21$ mmol/l, LDL n.s.

Laboratorní ukazatele byly stanovovány na počátku léčby, po čtyřech týdnech lázeňského pobytu. U pacientů, kteří konzumovali sledovaného kapra bylo zjištěno výrazné zlepšení ukazatelů tukového metabolismu (vysoce statisticky významně proti kontrolní skupině):

- snížení celkového cholesterolu
- snížení triacylglycerolů
- snížení nízkodenzitního cholesterolu (aterogenní částice)
- zvýšení vysokodenzitního cholesterolu (chrání cévy)
- snížení ukazatelů zánětu, (tedy rychlejší hojení, příkladně ran)

Hodnoty krevního tlaku, tepové frekvence ani tělesné hmotnosti se mezi skupinami nelišily.

Diskuse

Konzumace ryb a rybích produktů není v České republice uspokojivá ani při poměrně dobře provedených populárně naučných edukacích (2). Vzhledem k tomu, že v České republice umírá prakticky polovina dospělých na choroby srdce a cév, bylo by velmi dobře dosáhnout zlepšení konzumace přirozených zdrojů, hlavně omega 3 mastných kyselin, které nám rybí maso nabízí. Je také známo, že omega 3 mastné kyseliny mají příznivý efekt nejen na lipidové spektrum, ale také na parametry zánětu dalších markerů celé plejády chorob (3).

Ověřením těchto poznatků a jejich rozšířením o provedený klinický výzkum jsme potvrdili, že zvýšený příjem rybiho masa (eventuálně produktů z něj) by mohl příznivě ovlivnit i zdravotní stav české populace. Je známo, že běžně chovaný kapr má poměr nenasycených mastných kyselin omega 6/omega 3 zhruba 2, zatímco volně žijící kapr má tento poměr nižší než 1.

Závěr

Zvýšení obsahu nenasycených mastných kyselin v krmné směsi kapra (řepkové výlisky a lněné extrudované semínko určité odrůdy) mělo příznivý vliv na tukové spektrum příznivě nemocných po revaskularizační léčbě ischemické choroby srdeční.

Projekt byl podpořen grantem Ministerstva zemědělství ČR č. QH 92307

Literatura

1. V. Adámková, P. Kacer, J. Mraz, P. Suchanek, J. Picková, I. Králová Lesná, J. Skibová, P. Kozák, V. Maratka: The consumption of the carp meat and plasma lipids in secondary prevention in the heart ischemic disease patients. *Neuroendocrinol Lett* 2011; 32 (S2):17-21
2. Adámková V. Realita dodržování stravovacích doporučení v praxi – strava jako prevence civilizačních chorob, *Interní medicína pro praxi*, 2011, 11 (13), 427-431
3. Jabeen F., Chaudhry A.S.: Chemical compositions and fatty acid profiles of three freshwater fish species. *Food Chemistry*, 2010, 125, 991-996
4. Mráz J, Picková J: Differences between lipid content and composition of different parts of fillets from crossbred farmed carp (*Cyprinus carpio*). *Fish Physiol Biochem* 35: 615-623, 2009.

R 8**HODNOCENÍ JAKOSTI MASNÝCH VÝROBKŮ Z TRŽNÍ SÍTĚ**

Saláková, A., Pavlík, Z., Kameník, J., Steinhauserová, I.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie masa, Palackého tř. 1/3, 612 42 Brno

Abstrakt

Masné výrobky jsou velice oblíbenými produkty pro spotřebitele a často se vedou diskuze o jejich kvalitě. Z distribuční sítě v České Republice byly vybrány tři typy masných výrobků k monitoringu jakostních parametrů – šunkový salám, šunka standardní třídy jakosti a šunka výběrová. Každý výrobek byl odebrán od čtyř různých výrobců, výrobky byly odebrány v průběhu tří měsíců, od každého výrobce 5 odběrů. Byly provedeny analýzy základních fyzikálně-chemických a senzorických parametrů těchto výrobků. Byly hodnoceny rozdíly mezi jednotlivými výrobci, „stálá“ jakost výrobků a plnění legislativních požadavků podle Vyhlášky č. 326/2001 Sb. v platném znění. Mezi výrobci byly zaznamenány rozdíly v jakostních parametrech, u většiny výrobců byla zjištěna variabilita ve výsledcích u stejných výrobků v průběhu odběrového období. V několika případech se výrobci pohybují na hranici legislativních požadavků pro obsah čistých svalových bílkovin (šunka standardní jakosti 10 hm. %, šunka výběrová 13 hm. %).

Klíčová slova: kvalita, šunka standardní, šunka výběrová, šunkový salám, senzorická analýza

Úvod

V České republice má masná výroba velkou tradici. Podléhá přísným legislativním požadavkům, včetně požadavků Evropské unie. Mezi sledované vlastnosti nepatří už jen hygienická a zdravotní nezávadnost, ale i senzorická jakost masného výrobku.

V tržní síti lze v dnešní době nalézt značné množství různých druhů těchto výrobků od tuzemských i zahraničních producentů. Přesto stále budují tradiční výrobky, jejichž kvalita je garantována jasně vymezenými legislativními požadavky. Naše práce se zabývá hodnocením tepelně opracovaných masných výrobků šunek a šunkových salámů. Masné výrobky jsou u českých spotřebitelů stabilně velmi oblíbenou komoditou.

Podle Jaeger (2006) se konzument při nákupu potravin řídí třemi hlavními otázkami: „Co koupit? Co jíst? Bude mi to chutnat?“ a rozhodnutí zákazníka o koupi a konzumaci potravin je ovlivněno i faktory jako je pohodlí (např. snadnost přípravy), cena, technologie produkce, osobní zdraví, značka a v neposlední řadě i sociální faktory, které mimo jiné zahrnují vliv rodiny, kulturních hodnot, médií, demografických podmínek, vlastní image a mnoho dalších.

Tepelně opracované masné výrobky jsou multikomponentním systémem, ve kterém se producent snaží o maximalizaci organoleptických a ostatních kvalitativních vlastností produktu za dodržení minimální ceny. Kritickou technologickou vlastností je konzistence, která je limitována obsahem vody a tuku a cenou libového masa (Pouttu a Puolanne, 2004). Šunka a šunkový salám patří podle české legislativy (vyhláška MZe č. 326/2001 Sb. v platném znění) mezi tepelně opracované masné výrobky. Tepelné opracování musí odpovídat minimálně tepelnému účinku 70 °C po dobu 10 minut ve všech částech výrobku. Dle obsahu čistých svalových bílkovin dělíme šunku do tří jakostních kategorií: šunka standardní má minimální obsah čistých svalových bílkovin 10 hm. %; šunka výběrová má minimální obsah čistých svalových bílkovin 13 hm. % a nepřipouští se při její výrobě použití barviv, vlákniny, škrobu, rostlinných a jiných živočišných bílkovin; šunka nejvyšší jakosti má obsah čistých svalových bílkovin 16 hm. % a nepřipouští se při její výrobě použití barviv, vlákniny, škrobu, rostlinných a jiných živočišných bílkovin. Smyslové požadavky na šunky jsou následující: konzistence by měla být v uceleném kusu pevná, soudržná s tím, že se plátky nesmí oddělovat na jednotlivé svaly, výrobek musí mít na řezu barvu odpovídající druhu použitého masa, v nákroji musí být patrné jednotlivé svaly oddělené rozpracovanou svalovinou, připouští se ojedinělá menší ložiska tuku a menší dutinky. Vůně i chuť musí být typická pro šunku, chuť přiměřeně slaná, lahodná. V tenkých plátcích by měla být šunka na skusu křehká.

Pro šunkový salám je v legislativě uveden maximální obsah tuku ve výrobku 20 hm. %, obsah masa min. 55 hm. % a tyto senzorické parametry: konzistence by měla být pružná, soudržná, na řezu by měl být lesklý, hladký, s mozaikou růžové barvy libových kostek, přípustné jsou drobné vzduchové dutinky, dále ojedinělé měkké, drobné kolagenní částice ve spojce, vůně a chuť by měla být přiměřeně slaná a kořeněná, po čerstvé uzenině, výrobek na skusu šťavnatý.

Cílem práce bylo hodnocení rozdílů mezi jednotlivými výrobci v rámci výrobku, „stálá“ jakost výrobků v rámci sledovaného období a plnění legislativních požadavků podle Vyhlášky MZe č. 326/2001 Sb. v platném znění.

Materiál a metodika

V období 10 – 12/2011 bylo v maloobchodní síti zakoupeno celkem 20 kusů šunky standardní, 20 kusů šunky výběrové a 20 kusů šunkového salámu. Výrobky pocházely od 4 různých výrobců (A, B, C, D), od každého výrobce tak bylo získáno během 3 měsíců 5 produktů (5 odběrů).

Obsah tuku byl stanoven na přístroji SOXTEC. Jako extrakční činidlo byl použit diethylether. Obsah kolagenu byl stanoven spektrofotometricky při vlnové délce 550 nm na spektrofotometru GENESYSTM 6 (Thermo Electron Corporation, USA) jako množství 4 – hydroxyprolinu. Obsah hydroxyprolinu byl získán z kalibrační křivky a přepočten na obsah kolagenu. Obsah čistých svalových bílkovin byl spočten jako rozdíl v obsahu čistých bílkovin a kolagenu. Čisté bílkoviny byly stanoveny po vysrážení nebílkovinných N-látek horkým taninem a následném převodu organického dusíku na anorganický dusík na přístroji KJEHLTEC metodou podle Kjeldahla. Pro přepočet obsahu dusíku na obsah bílkovin byl použit faktor 6,25. Pro stanovení obsahu soli byly naváženy 2 g vzorku a přelity horkou vodou. Po třiceti minutách byl přidán 1 ml činidla K₂CrO₄ a titrováno AgNO₃ do trvalé změny zbarvení (žlutá – oranžová).

Senzorického hodnocení se účastnili proškolení zaměstnanci a studenti Ústavu hygieny a technologie masa, VFU Brno. Hodnocení probíhala v senzorické laboratoři na Ústavu hygieny a technologie masa, která odpovídá požadavkům normy ČSN ISO 8589. Pro hodnocení masných výrobků byly využity nestrukturované grafické stupnice o délce 100 mm se slovním popisem na obou koncích. Levý okraj stupnice označoval plně vyhovující stav parametru (100), pravý okraj stupnice zcela nevyhovující stav parametru (0). Hodnocenými parametry byly: vzhled v nákroji, barva, vypracování, vůně, konzistence, textura, slanost, chuť a celkový dojem.

Výsledky a diskuse

V tabulce číslo 1 – 3 jsou uvedeny výsledky chemických analýz jakostních parametrů jednotlivých masných výrobků. Obsah tuku šunkových salámů je výrazně nižší, než udává legislativa (20 %), jednotliví výrobci se v obsahu tuku výrazně liší, u výrobce D jsme zaznamenali největší rozptyl v obsahu tuku v průběhu pěti odběrů. U výrobce C jsme zjistili nejvyšší obsah čistých svalových bílkovin, u výrobce D byl zase největší rozptyl mezi jednotlivými odběry.

Zákazníka velice zajímá obsah soli ve výrobku, pokud je jeho obsah vyšší, než 2,5 % musí být obsah uveden dle české legislativy na obalu. Obsah soli byl nejvyšší u výrobce šunkového salámu C, u ostatních výrobců byl do 2,5 %.

Pro šunku standardní jakosti je stanoven minimální obsah čistých svalových bílkovin na 10 %. Tento limit tři z výrobců v některých odběrech nesplňují. Naopak v jiném odběru dokonce překračují hranici 12 %. Vzorky šunky standardní kvality se mezi sebou také výrazně liší v obsahu soli. Výrobky výrobce C obsahují nejvíce tuku.

Pro šunku výběrovou platí minimální obsah čistých svalových bílkovin 13 %. Tuto hranici opět někteří z výrobců v některých odběrech nedodrželi. Obsah tuku kolísá v jednotlivých odběrech i u výrobců, v průměru je nižší než u standardních šunek.

Při senzorickém hodnocení byly zjištěny odchylky v hodnocení mezi jednotlivými odběry u jednotlivých výrobců. Z výsledků uvádíme pouze výrobky výrobce A, kde je patrné, že senzoričtí hodnotitelé hodnotili šunku výběrovou stejně ve všech odběrech, u šunkového salámu byly zjištěny odchylky v senzorické jakosti v průběhu všech odběrů, šunka standardní v 2. a 3. odběru byla hodnocena hůře.

Tabulka 1. Chemické složení šunkového salámu

	Výrobce A			Výrobce B			Výrobce C			Výrobce D		
	tuk [%]	sůl [%]	ČSB [%]	tuk [%]	sůl [%]	ČSB [%]	tuk [%]	sůl [%]	ČSB [%]	tuk [%]	sůl [%]	ČSB [%]
1. odběr	9,84	2,23	9,55	4,94	2,25	8,51	11,16	2,66	11,59	5,17	1,91	10,35
S.D.	0,60	0,04	0,59	0,04	0,01	0,62	0,99	0,09	0,16	1,01	0,04	0,22
2. odběr	7,53	2,19	8,56	5,37	2,33	9,40	6,78	2,74	12,69	15,56	2,17	6,81
S.D.	0,04	0,05	0,63	0,61	0,00	0,24	0,44	0,05	0,25	0,04	0,06	0,16
3. odběr	8,38	2,17	8,49	3,57	2,46	8,22	8,56	2,70	12,34	3,97	1,97	8,40
S.D.	0,24	0,00	1,15	0,43	0,02	0,35	0,45	0,01	0,38	0,40	0,03	0,58
4. odběr	8,27	2,07	8,39	4,60	2,08	9,56	9,67	2,62	12,12	5,00	2,36	10,32
S.D.	0,06	0,09	0,96	0,11	0,05	0,48	0,01	0,01	1,21	0,08	0,06	0,62
5. odběr	9,92	2,21	9,49	4,03	2,25	11,06	3,09	2,70	14,03	4,80	2,23	11,13
S.D.	1,33	0,02	0,15	0,45	0,03	0,53	0,66	0,08	0,51	0,22	0,03	0,32

ČSB – obsah čistých svalových bílkovin

Tabulka 2. Chemické složení standardní šunky

	Výrobce A			Výrobce B			Výrobce C			Výrobce D		
	tuk [%]	sůl [%]	ČSB [%]	tuk [%]	sůl [%]	ČSB [%]	tuk [%]	sůl [%]	ČSB [%]	tuk [%]	sůl [%]	ČSB [%]
1. odběr	2,43	2,41	9,22	1,95	2,61	9,43	4,49	2,39	11,98	2,76	1,86	11,92
S.D.	0,53	0,09	0,29	0,22	0,02	0,63	0,08	0,02	0,47	0,39	0,03	0,19
2. odběr	2,29	2,29	9,98	1,88	2,62	13,25	4,50	2,26	12,54	3,31	2,03	11,34
S.D.	0,18	0,01	0,48	0,12	0,02	1,26	0,43	0,03	0,42	0,11	0,05	0,36
3. odběr	1,91	2,33	8,46	1,45	2,81	11,50	6,48	2,80	8,70	2,33	2,12	12,11
S.D.	0,08	0,00	0,36	0,02	0,00	0,82	0,29	0,04	0,39	0,11	0,01	1,09
4. odběr	2,41	2,34	11,03	1,16	2,18	11,51	4,08	2,31	10,85	2,89	2,17	11,56
S.D.	0,22	0,04	1,02	0,05	0,03	0,46	0,24	0,11	0,26	0,32	0,27	0,73
5. odběr	3,21	2,35	11,22	0,94	2,26	11,95	3,46	2,53	10,84	2,75	1,95	13,76
S.D.	0,91	0,06	0,15	0,06	0,05	0,53	0,17	0,05	0,81	0,09	0,07	0,69

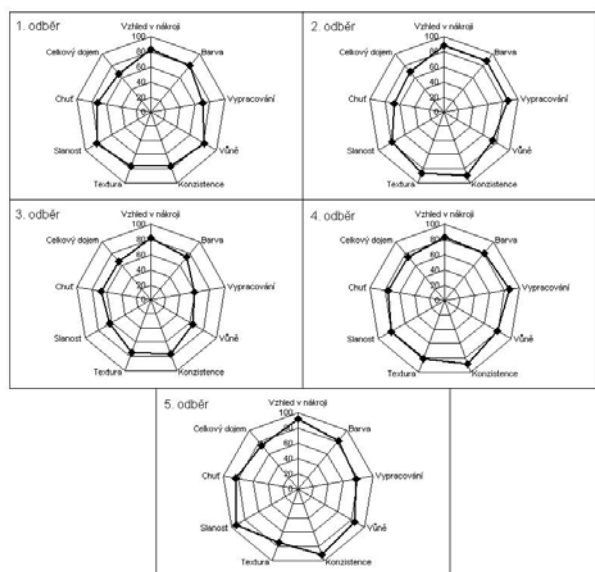
ČSB – obsah čistých svalových bílkovin

Tabulka 3. Chemické složení výběrové šunky

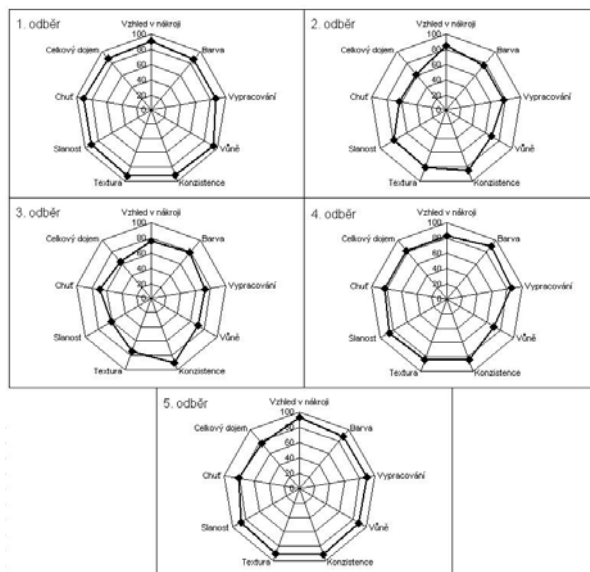
	Výrobce A			Výrobce B			Výrobce C			Výrobce D		
	tuk [%]	sůl [%]	ČSB [%]	tuk [%]	sůl [%]	ČSB [%]	tuk [%]	sůl [%]	ČSB [%]	tuk [%]	sůl [%]	ČSB [%]
1. odběr	2,02	2,49	14,87	1,16	2,46	12,61	2,31	2,46	13,06	2,25	2,40	13,49
S.D.	0,21	0,09	0,29	0,22	0,04	0,29	0,11	0,01	0,26	0,08	0,04	0,71
2. odběr	2,05	2,27	12,75	2,44	2,48	15,02	4,22	2,33	13,54	5,21	2,11	10,30
S.D.	0,36	0,02	0,38	0,25	0,01	0,84	0,05	0,02	0,41	0,05	0,02	0,92
3. odběr	2,16	2,34	13,96	2,85	2,58	13,17	5,02	2,56	10,79	2,24	2,22	12,31
S.D.	0,01	0,04	0,19	0,61	0,02	0,82	0,15	0,07	0,85	0,03	0,08	0,36
4. odběr	1,39	2,02	15,18	1,33	2,64	14,21	3,63	2,47	11,54	3,32	2,37	13,23
S.D.	0,11	0,02	0,96	0,05	0,04	0,15	0,08	0,06	0,11	0,25	0,01	0,15
5. odběr	1,55	2,32	13,22	2,79	2,57	14,77	4,28	2,64	13,32	3,74	2,34	13,34
S.D.	0,08	0,02	0,83	0,77	0,01	0,47	0,43	0,04	0,41	0,69	0,08	0,29

ČSB – obsah čistých svalových bílkovin

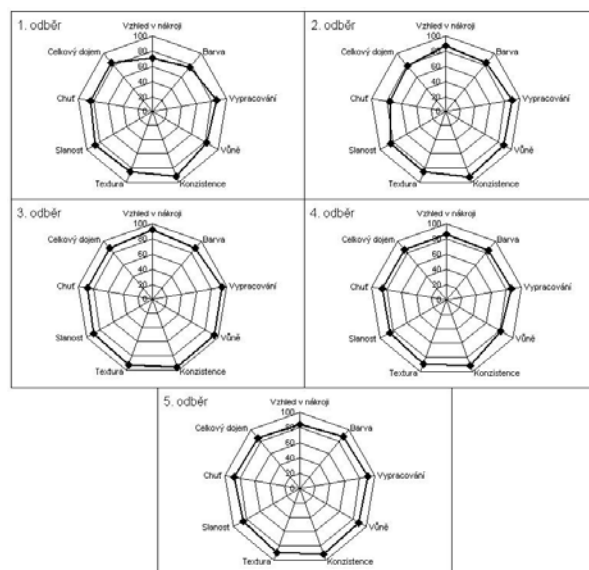
Při výběru masného výrobku je vhodné sledovat jeho složení z hlediska správné výživy, masné výrobky jsou zdrojem plnohodnotných bílkovin, ale také sodíku a někdy vysokého obsahu tuku. Pro zákazníka je nejdůležitějším kritériem to jak, výrobek vypadá, ale většinou i cena výrobku.



Obrázek 1. Senzorické hodnocení masného výrobku šunkový salám výrobce A



Obrázek 2. Senzorické hodnocení masného výrobku šunka standardní výrobce A



Obrázek 3. Senzorické hodnocení masného výrobku šunka výběrová výrobce A

Poděkování

Práce vznikla za podpory Výzkumného záměru MŠMT č. 6215712402 (Veterinární aspekty bezpečnosti a kvality potravin).

Seznam použité literatury

POUTTU, P. & PUOLANNE, E. A procedure to determine the water-binding capacity of meat trimmings for cooked sausage formulation. *Meat Science*, 2004, vol. 66, no. 2, p. 329-334.

JAEGER, S. R. Non-sensory factors in sensory science research. *Food Quality and Preference*, 2006, vol. 17, no. 1-2, p. 132-144.

Vyhláška MZe 326/2001 Sb. v platném znění.

R 9**POTENCIÁLNÍ ZDROJE CHYB PŘI HODNOCENÍ PODÍLU ŽLOUTKŮ VE VAJEČNÝCH LIKÉRECH**Grégrová A.¹, Čížková H.¹, Rajchl A.¹, Šnebergrová J.¹, Voldřich M.¹

1) Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

ÚVOD

Dle Vyhlášky č. 335/1997 Sb. je vaječný likér, Advokát či Avocat definován jako lihovina, jenž musí obsahovat nejméně 140 g vaječných žloutků a nejméně 150 g cukru nebo medu v 1 l výrobku. Likér s přídavkem vajec pak musí obsahovat nejméně 70 g vaječných žloutků v 1 l výrobku.

Vaječný likér je emulze, jejímiž majoritními složkami jsou vaječný žloutek, cukr, mléko a líh. Dalšími složkami jsou vaječné bílky (sušené), aroma (např. vanilkové, rumové, kakaové), barviva (např. přírodní barvivo kurkumin či syntetická barviva jako tartrazin či košenilová červeň A), stabilizátory (např. xanthan) a další emulgátory (např. lecitin).

Významné snižování obsahu žloutků v likéru není z technologického hlediska rozumné, protože vede k řadě negativních následků: a) výrazné snížení emulgačních vlastností; b) nebezpečí zhoršení smyslových vlastností výrobku (rozsazování emulze, ztráta barvy, plnosti a vaječné chuti); c) snížení nutriční hodnoty.

Pro stanovení vaječného podílu v lihovinách slouží následující markery: stanovení obsahu fosforu; stanovení obsahu cholesterolu; stanovení zastoupení celkového obsahu, popř. jednotlivých mastných kyselin; stanovení obsahu lipidů a frakcí fosfolipidů. Pro stanovení koncentrace vaječného žloutku v lihovinách je v současnosti nejběžněji používána fotometrická metoda podle Nařízení komise (ES) č. 2091/2002, kterým se stanoví referenční metody Společenství používané pro rozbor lihovin. Tato metoda je vhodná pro stanovení koncentrace vaječného žloutku v rozsahu od 40 do 250 g·l⁻¹ ve vaječném likéru a v likéru s přídavkem vajec.

Cílem práce bylo zhodnotit potenciální zdroje chyb použití fosforu, stanoveného metodou dle uvedeného nařízení, jako markeru podílu žloutků ve výrobku. Potenciální vlivy na stanovenou hodnotu fosforu jsou následující: a) variabilita přirozeného obsahu fosforu ve žloutcích (z biologických faktorů je nejčastěji uváděn věk, zdravotní stav nosnice, průběh snáškového cyklu a výživa nosnice); b) vliv receptury a technologie výroby (odlišné složení výrobků stejné kategorie, přídavek aditiv apod.); c) přítomnost fosforu v dalších surovinách (v mléce, vaječném bílku). Daná práce byla zaměřena na ověření předpokladu, že na stanovení obsahu vaječného žloutku ve vaječných likérech pomocí výše zmíněné metody by měl mít vliv pouze přirozený obsah fosforu ve vaječném žloutku, nikoliv fosfor pocházející z dalších surovin, tj. z plnotučného mléka a vaječných bílků.

MATERIÁL A METODY

Celkem bylo analyzováno 16 vzorků s cílem zhodnocení potenciálních zdrojů chyb při hodnocení podílu žloutků ve vaječných likérech a likérech s přídavkem vajec. Soubor zahrnoval komerčních vzorky likéru s přídavkem vajec (vaječných krémů), vaječných žloutků, vaječných bílků a plnotučného mléka; dále pak technologické vzorky dodané výrobcem (vaječné žloutky a melanž) a modelové vzorky (**Tab. 1**).

Dále byl analyzován soubor 13 komerčních vzorků (3 likéry s přídavkem vajec a 10 vaječných likérů) s cílem zhodnocení situace na trhu s danou komoditou (**Tab. 3**).

Podmínky stanovení koncentrace vaječného žloutku v lihovinách fotometrickou metodou dle Nařízení komise (ES) č. 2091/2002

Podstatou metody je extrakce sloučenin fosforu obsažených ve vaječném žloutku, které jsou rozpustné v ethanolu, a následné stanovení fotometricky v podobě fosfáto-molybdenanového komplexu.

Příprava vzorku - ředění původního vzorku ethanolom, sonikace 15 min, přídavek křemelinu,

filtrace,

- přídavek 5 ml 5 % roztoku octanu hořečnatého k 25 ml filtrátu, zkoncentrování na vroucí vodní lázni, zpopelnění a žihání (teplotní program: až 500 °C, celkově 26 hod.),
- převedení popela po žihání 10 ml 10 % kyseliny sírové, ke stanovení fosforečnanů použit 5 ml alikvot objemu roztoku.

Vlastní stanovení fosforu:

- ke kalibraci použit standard dihydrogenfosforečnan draselný,
- proměřeno při vlnové délce 420 nm,
- spektrofotometrické stanovení založené na molybdeno-vanadičnanovém činidle (molybdenan amonný a vanadičnan amonný).

Tab. 1 Analyzované vzorky (zhodnocení potenciálních zdrojů chyb)

Číslo vzorku	Název vzorku	Výrobce/prodávající/dodavatel	Označení vzorku	Charakter vzorku
1	Royal vaječný krém	Granette a Starorežná Distilleries a.s.	Komerční vzorek	Likér s přídavkem vajec
2	Vaječné žloutky	Stock Plzeň-Božkov s.r.o.	Technologický vzorek	Vaječný žloutek
3	Čerstvá vejce	Schubert partner a.s.	Komerční vzorek	Vaječné žloutky
4	Jihočeské mléko plnotučné trvanlivé; 3,5 % tuku	Madeta a.s.	Komerční vzorek	Mléko plnotučné
5	Čerstvá vejce	Schubert partner a.s.	Komerční vzorek	Vaječné bílky
6	Melanž	Stock Plzeň-Božkov s.r.o.	Technologický vzorek	Melanž (vaječné žloutky, mléko a cukr)
7	Likér s přídavkem vajec a vaječné žloutky	Připraveno v analytické laboratoři VŠCHT Praha	Modelový vzorek	Vzorek č. 1 a 2 (směs)
8	Likér s přídavkem vajec a vaječné žloutky	Připraveno v analytické laboratoři VŠCHT Praha	Modelový vzorek	Vzorek č. 1 a 3 (směs)
9	Likér s přídavkem vajec a plnotučné mléko	Připraveno v analytické laboratoři VŠCHT Praha	Modelový vzorek	Vzorek č. 1 a 4 (směs)
10	Likér s přídavkem vajec a vaječné bílky	Připraveno v analytické laboratoři VŠCHT Praha	Modelový vzorek	Vzorek č. 1 a 5 (směs)
11	Likér s přídavkem vajec a melanž	Připraveno v analytické laboratoři VŠCHT Praha	Modelový vzorek	Vzorek č. 1 a 6 (směs)
12	Klasik vaječný krém	Připraveno v analytické laboratoři VŠCHT Praha	Komerční vzorek	Likér s přídavkem vajec
13	Čerstvé selské mléko plnotučné; nejméně 3,5 % tuku	Olma, a.s.	Komerční vzorek	Mléko plnotučné
14	Podestýlková vejce	Česká vejce CZ, a.s.	Komerční vzorek	Vaječné bílky
15	Likér s přídavkem vajec a plnotučné mléko	Připraveno v analytické laboratoři VŠCHT Praha	Modelový vzorek	Vzorek č. 12 a 13 (směs)
16	Likér s přídavkem vajec a vaječné bílky	Připraveno v analytické laboratoři VŠCHT Praha	Modelový vzorek	Vzorek č. 12 a 14 (směs)

VÝSLEDKY A DISKUSE

Cílem práce bylo zhodnotit potenciální zdroje chyb použití fosforu, stanoveného fotometrickou metodou podle Nařízení komise (ES) č. 2091/2002, jako markeru podílu žloutků ve výrobku (**Tab. 2; Graf 1**).

Od jiných postupů stanovení fosforu se tato metoda liší především krokem izolace – extrakce – vzorku ethanolem a následným spektrofotometrickým stanovením fosfato-molebdenanového komplexu. Metoda dle nařízení je zaměřena na fosfor pocházející z vaječných žloutků, nikoliv na fosfor celkový jako ostatní metody stanovení fosforu.

Tab. 2 Výsledky analýz vzorků (zhodnocení potenciálních zdrojů chyb)

Č. vzorku	Obsah fosforu podle literatury* [mg·kg ⁻¹]	Experimentálně stanovený obsah fosforu [mg·kg ⁻¹]	Experimentálně stanovená koncentrace vaječného žloutku [g·l ⁻¹]
1	Min. 283 (min. 70 g·l ⁻¹ vaječného žloutku)	303	75
2	5000-5900	2143	564
3	5000-5900	4200	985
4	870-980	138	33
5	210-330	0	0
6	—	486	129
7	—	434	110
8	—	546	139
9	—	233	57
10	—	182	45
11	—	395	102
12	Min. 283 (min. 70 g·l ⁻¹ vaječného žloutku)	468	116
13	870-980	79	19
14	210-330	0	0
15	—	303	75
16	—	281	70

*[1, 4]

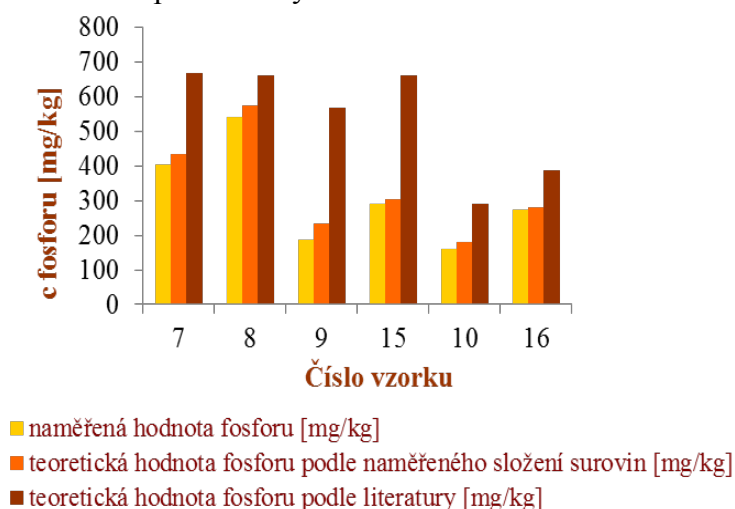
Byla též zhodnocena situace na trhu s daným výrobkem (**Tab. 3**) a bylo prokázáno, že obsah vaječných žloutků odpovídá požadavkům legislativy s výjimkou dvou produktů, vzorek č. 20 a 26, kde byl obsah vaječného žloutku stanoven nižší než 140 g·l⁻¹.

Tab. 3 Výsledky analýz vzorků (zhodnocení situace na trhu)

Číslo vzorku	Název vzorku	Výrobce/prodávající/dodavatel	Experimentálně stanovená koncentrace vaječného žloutku [g·l ⁻¹]
17	Klasik vaječný cream	Granette a Starorežná Distilleries a.s.	93
18	Royal vaječný cream	Granette a Starorežná Distilleries a.s.	67
19	Moravský vaječný Metelka likéry	Milan Metelka a.s.	68
20	Vaječný emulzní likér	Palírna u Zeleného stromu a.s.	116
21	Božkov vaječný likér	Stock Plzeň-Božkov s.r.o.	138
22	Vaječný likér Alliance	Lidl v.o.s.	133
23	Vaječný likér Alliance	Lidl v.o.s.	159
24	Vaječný likér Alliance	Lidl v.o.s.	159
25	Vaječný likér Alliance	Lidl v.o.s.	156
26	Vaječný likér	Fruko-Schulz s.r.o.	106
27	Vaječný sen – sváteční vaječný likér	Granette a Starorežná Distilleries a.s.	149
28	Vaječný sen – sváteční vaječný likér	Granette a Starorežná Distilleries a.s.	162
29	Eierlikör – vaječný likér	Lidl v.o.s.	193

Z grafu 1 vyjádření stanovení fosforu v modelových vzorcích vyplývá, že daná metoda dle nařízení nezahrnuje fosfor z jiných surovin, než přímo z vaječných žloutků – stanovené hodnoty fosforu z ostatních surovin jsou zanedbatelné. Metoda dle nařízení eliminuje izolaci fosforu z jiných matric, než z vaječných žloutků. Z grafu je patrný malý rozdíl mezi naměřenou hodnotou fosforu a teoretickou hodnotou fosforu vypočteného podle naměřeného složení surovin, který je pravděpodobně způsoben horší výtěžností fosforu z emulze v porovnání se surovinou. Z literárních

hodnot nelze pro interpretaci vycházet, je třeba se řídit jak postupem, tak způsobem výpočtu podle nařízení, zvláště v případě mléka a částečně i vaječných bílků, protože v opačném případě by byl získán falešně pozitivní výsledek.



Graf 1 Vyjádření výsledků pro modelové (směsné) vzorky

ZÁVĚR

Klíčovými kroky metody stanovení koncentrace vaječného žloutku v lihovinách dle Nařízení komise (ES) č. 2091/2002 jsou způsob izolace (extrakce) sloučenin fosforu z vaječných žloutků ethanolem a následné spektrofotometrické stanovení fosfáto-molybdenanového komplexu. Byl potvrzen předpoklad, že na stanovení obsahu vaječného žloutku ve vaječných likérech pomocí výše zmíněné spektrofotometrické metody má majoritně vliv pouze přirozený obsah fosforu ve vaječném žloutku. Touto metodou byl stanoven nízký obsah fosforu také v mléce, ovšem daný příspěvek byl zanedbatelný. Nejistota měření není dle nařízení stanovena, avšak z 5 %ní chyby měření a z variability surovin byla stanovena nejistota měření $\pm 15 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ pro hodnotu $70 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ a $\pm 20 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ pro hodnotu $140 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$. Ze zjištěných závěrů tedy vyplývá, že obsah vaječného podílu ve vaječných likérech a v likérech s přidavkem vajec je nezbytné a vhodné stanovovat metodou dle Nařízení komise (ES) č. 2091/2002.

PODĚKOVÁNÍ

Projekt byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum MŠMT č. 21/2012 a z podpory projektu MZe č. QI91B283.

POUŽITÁ LITERATURA

1. Vyhláška č. 335/1997 Sb., kterou se provádí § 18 písm. A), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro nealkoholické nápoje a koncentráty k přípravě nealkoholických nápojů, ovocná vína, ostatní vína a medovinu, pivo, konzumní líh, lihoviny a ostatní alkoholické nápoje, kvasný ocet a droždí.
2. Rajchl A.: Autenticita alkoholických nápojů vyráběných z ovoce a vajec. Diplomová práce, VŠCHT Praha, 2005.
3. Nařízení komise (ES) č. 2091/2002 Sb. v platném znění, kterým se stanoví referenční metody Společenství používané pro rozbor lihovin.
4. Velíšek, J., Hajšlová J.: Chemie potravin I. Osis, Tábor, 3. vydání, 2009.
5. Brereton P., Hasnip S., Bertrand A., Wittkowski R., Guillou C.: Analytical methods for the determination of spirit drinks. *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 22, No. 1, (2003): 19-25.
6. Čížková H., Voldřich M., Prokorátová V., Kvasnička F.: Determination of egg Yolk Content in Egg Liqueurs. *Czech Journal of Food Science*. Vol. 22, No 1 (2004): 9-15.

R 10**NUTRIČNÍ HODNOTA SÓJOVÝCH NÁPOJŮ**

Dostálová J., Doležal M., Šípková A., Švehlová A.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Abstrakt

Byla zhodnocena výživová hodnota tekutých a sušených sójových nápojů a srovnána s výživovou hodnotou mléka kravského. Tekuté sójové nápoje mají ve srovnání s kravským mlékem určité přednosti (neobsahují laktosu a cholesterol, tuk má vhodnější složení mastných kyselin, vyšší obsah lecitinu a vitamínu E, obsahují pozitivně působící látky např. isoflavony aj.), ale i nedostatky, zejména nižší biologickou hodnotu bílkovin, nízký obsah špatně využitelného vápníku (pokud nejsou obohaceny) a obsah některých přírodních toxických a antinutričních látek. Sója je daleko významnějším alergenem než mléko.

Většina sušených sójových nápojů obsahuje velmi malé množství extraktu sójových bobů a tudíž má nízký obsah bílkovin (2,1-5,5 %), vysoký obsah sacharidů a tuk nevhodného složení. Tuk analyzovaných nápojů měl buď velmi vysoké množství (38,1 - 49,3 %) *trans*-nenasycených mastných kyselin (byl použit částečně ztužený tuk) nebo vysoký obsah nasycených mastných kyselin (92,3 – 97,1%) s vysokým podílem kyseliny laurové a myristové, svědčící o použití kokosového nebo palmojádrového tuku. Z hlediska kardiovaskulárních onemocnění nemá mléčný tuk výhodné složení, ale tuk přítomný v námi analyzovaných výrobcích byl ještě výrazně horší. Sušené sójové nápoje obsahují, na rozdíl od sušeného kravského mléka, vždy i látky přídatné – stabilizátory, emulgátory a protispékavé látky.

Sójové nápoje jsou zpestřením sortimentu potravinářských výrobků a potřebným výrobkem pro vegany a lidi nesnášející laktosu nebo mající alergii na mléčné výrobky. Pro zdravou populaci by však v žádném případě neměly sloužit jako náhrada mléka, protože se jedná o potravinu zcela jiného složení. Složení sušených sójových nápojů je z hlediska výživového velmi nevýhodné. O významu pro výživu mnoho napoví surovinové složení a údaje o obsahu jednotlivých živin, a proto je nutné sledovat údaje na etiketě, zvláště při použití těchto výrobků pro výživu dětí, těhotných a kojících žen a starších lidí.

Úvod

Mléko a mléčné výrobky patří k základním potravinám a je doloženo, že je lidé konzumovali od pradávna. Přesto se o nich v médiích objevuje řada negativních informací. „Odborníci na výživu“ varují, že mléko „je jedovaté“, „zahleňuje“, „je potrava pouze pro mláďata“, „podporuje vznik osteroporózy“ a mnoho dalších nesmyslných tvrzení. Jako náhrada za mléko se doporučují různé rostlinné nápoje, zejména nápoje sójové. Dříve se tyto výrobky nazývaly mléka, ale podle současné potravinářské legislativy se termín mléko smí používat pouze pro produkt mléčné žlázy savců. K tomuto opatření došlo proto, aby spotřebitel věděl, že konzumuje potravinu o zcela odlišném složení a tudíž se zcela odlišným přínosem k výživě člověka. V následujícím textu zhodnotíme z hlediska výživového složení sójových nápojů tekutých i sušených. V případě sušených sójových nápojů uvedeme i výsledky vlastních analýz přítomného tuku.

Sójové „mléko“ je typická východoasijská potravina. Do Evropy a USA se však rozšířila až ve 20. století a v průběhu devadesátých let minulého století se i na našem trhu objevila řada výrobků na bázi sójových bobů, označovaných nejprve jako sójová mléka, později, podle nové legislativy, sójové nápoje.

Sójové nápoje jsou řídké emulze, specifické chuti, připomínající mléko. Jejich složení závisí na použitém technologickém postupu výroby. Složení sójových nápojů uváděné v různých literárních zdrojích je uvedeno v tabulce 1 a obsah mastných kyselin v tabulce 2.

Tradiční postup výroby sójových nápojů spočívá v rozemletí namočených sójových bobů, povaření s vodou, odstředění získané emulze (sediment se nazývá *okara*), její pasteraci a homogenizaci. Sušené sójové nápoje se vyrábějí různými postupy a některé obsahují jen velmi malý

podíl extraktu sójových bobů. Sójová sušina je z velké části nahrazena sušeným kukuřičným sirupem nebo glukózovým sirupem a částečně hydrogenovaným sójovým olejem nebo jiným tukem.

Tabulka 1. Průměrné složení tekutých sójových nápojů a plnotučného kravského mléka (%)

Živina g/100g	Sójové nápoje tekuté				Kravské mléko
	FAO	Wikipedia	Benk	USDA	Kadlec a kol.
Bílkoviny	3,6	3,5	4,0	3,3	3,2
Tuky	2,3	2,0	2,5	1,8	4,0
Sacharidy	3,4	2,9	3,0	6,3	4,6
Popel		0,5	0,4	0,7	0,7
Energie (kJ/kcal)	204/49			226/54	
Cholesterol	0	0	0	0	14 mg
Laktóza	0	0	0	0	4,6

Tabulka 2. Obsah mastných kyselin v sójovém nápoji a v kravském mléce (g/100 g výrobku) (USDA)

Mastné kyseliny	Sójový nápoj tekutý	Kravské mléko
Nasycené	0,205	2,278
Monoenové	0,401	1,057
Polyenové	0,961	0,136

Sójové nápoje nemohou sloužit jako rovnocenná náhrada mléka. Jejich předností je nepřítomnost cholesterolu a laktózy, lepší kvalita tuku (pokud obsahují olej ze sójových bobů) z hlediska složení mastných kyselin, vyšší obsah lecitinu a vitamínu E a přítomnost isoflavonů, látek, které u starších žen působí preventivně proti osteoporose a kardiovaskulárním onemocněním. Velkým nedostatkem (pokud se nejedná o nápoje obohacené) je nízký obsah vápníku (v průměru 25 mg/100g, zatímco tekuté mléko obsahuje průměrně 120 mg/100g), který je navíc málo využitelný (max. 10%; v mléce je využitelnost vápníku cca 30 %) a dále nižší biologická hodnota bílkovin. V některých sušených výrobcích je velice nízký obsah bílkovin (pouze několik procent – v námi analyzovaných výrobcích se obsah bílkovin pohyboval v rozmezí 2,1-5,5 %, s výjimkou jednoho nápoje označeného extra protein, který obsahoval 28 % bílkovin, zatímco kravské sušené mléko obsahuje zhruba 25 % bílkovin). Jsou to v podstatě směsi upravených škrobů s tukem, který není totožný s tukem obsaženým v sójových bobech (většinou ve stejném množství jako v sušeném plnotučném mléce) a malým množstvím extraktu ze sójových bobů. Tuk sušených nápojů má často nevhodné složení mastných kyselin (vysoký obsah *trans*-nenasycených nebo nasycených mastných kyselin). Sušené sójové nápoje obsahují, na rozdíl od sušeného kravského mléka) vždy i látky přídatné – stabilizátory (nejčastěji fosforečnan draselný), emulgátory a protispékavé látky (oxid křemičitý).

Nevýhodou také je, že sójové boby jsou daleko větším alergenem než kravské mléko a obsahují pestrrou škálu přírodních toxických a antinutričních látek, včetně látek které způsobují nadýmání. Většina z nich se sice tepelným ošetřením inaktivuje, ale část zůstává, a proto bychom sójových nápojů, stejně jako ostatních výrobků ze sóji neměli konzumovat velká množství.

Experimentální část

Materiál a metody

Bylo stanoveno složení mastných kyselin tuku 10 sušených sójových nápojů zakoupených ve 4. čtvrtletí 2009 a 5 sušených sójových nápojů v 1. čtvrtletí 2012 v pražské tržní síti. Surovinové složení výrobků z roku 2012 je uvedeno v tabulce 3. Obsah tuku byl stanoven po obnově nápoje dvojnásobnou extrakcí směsí rozpouštědel (ethanol, hexan, diethylether). Kvalitativní a kvantitativní analýza mastných kyselin byla provedena v izolovaném tuku po převedení na methylestery na kapilární koloně Supelco SP 2560, plynový chromatograf Hewlett Packard 6890 s plamenovým ionizačním detektorem.

Tabulka 3. Surovinové složení sušených sójových nápojů z roku 2012

	Označení výrobku	Složení
1	Zajíc Sójový nápoj NATURAL 400 g	sušený kukuřičný sirup, (částečně hydrogenovaný sójový olej, sójová bílkovina) 29,4 %, regulátor kyselosti fosforečnan draselný, emulgátor E471, kaseinát sodný, protispékavá látka oxid křemičitý, sůl, přírodně identické barvivo karoten
2	Zajíc Sójový nápoj s příchutí smetany 400 g	Sušený kukuřičný sirup, (částečně hydrogenovaný sójový olej, sójová bílkovina) 29 %, regulátor kyselosti fosforečnan draselný, emulgátor E471, kaseinát sodný, protispékavá látka oxid křemičitý, sůl, aroma, přírodně identické barvivo karoten
3	Zajíc Sójový nápoj PLUS 350 g	sušený kukuřičný sirup, (částečně hydrogenovaný sójový olej, sójová bílkovina, sójový lecitin) 30 %, vápník, vitamínový komplex, regulátor kyselosti fosforečnan draselný, emulgátor E471, kaseinát sodný, protispékavá látka oxid křemičitý, sůl, přírodně identické barvivo karoten
4	Soja Milk NATURAL 400 g	glukózový sirup, částečně ztužený rostlinný tuk, sojový proteinový koncentrát 5 %, tepelně upravená sojová mouka 3 %, emulgátor: estery mastných kyselin, stabilizátor: fosforečnan draselný, protispékavá látka: oxid křemičitý
5	Soja Milk Vápník + lecitin 400 g	glukózový sirup, částečně ztužený rostlinný tuk, sojový proteinový koncentrát 5,6 %, tepelně upravená sojová mouka 3 %, Aquamin (kalcifikovaná řasa Lithothamnion Calcareum), sójový lecitin 1,6 %, emulgátor: estery mastných kyselin, stabilizátor: fosforečnan draselný, protispékavá látka: oxid křemičitý

Výsledky

Tabulka 4. Obsah tuku (%) a složení mastných kyselin v % z celkových mastných kyselin tuku sušených sójových nápojů z roku 2009

Vzorek	Název výrobku	Obsah tuku	TFA	SAFA	MUFA	PUFA	Ostatní
1	Soja Milk natural	24	0,46	93,19	3,48	2,61	0,26
2	Zajíc Sojový nápoj Plus	26	48,27	25,35	23,35	1,74	1,29
3	Soja Milk vanilka	24	0,14	96,48	1,37	1,95	0,05
4	Soja Milk cappuccino	24	0,11	92,29	4,63	2,70	0,27
5	Soja Milk extra protein	10	0,12	94,95	2,08	2,71	0,15
6	Zajíc Sójový nápoj s vlákninou	23	48,96	25,54	23,64	0,72	1,14
7	Zajíc Sójový nápoj s příchutí smetany	25,5	49,33	24,96	23,48	0,78	1,45
8	ActiveMilk	17,3	48,15	25,74	24,16	0,90	1,06
9	Soja Milk jahoda	24	0,62	95,34	1,69	1,93	0,42
10	Zajíc Sojový nápoj Natural	27,4	49,17	25,18	23,51	0,78	1,36

Z výsledků plyne, že tuk poloviny sušených sójových nápojů obsahoval velmi vysoké množství (48,2 - 49,3 %) *trans*-nenasycených mastných kyselin (byl použit částečně ztužený tuk). Obsah *trans*-nenasycených mastných kyselin v jedné porci (25 g sušeného výrobku) překročil u čtyř výrobků (Zajíc Sójový nápoj Plus, Zajíc Sójový nápoj s vlákninou, Zajíc Sójový nápoj s příchutí a Zajíc Sójový nápoj natural) tolerovatelný denní příjem 2,5 g. Druhá polovina vzorků sice *trans*-nenasycené mastné kyseliny neobsahovala, ale podle složení mastných kyselin obsahovala tuk kokosový nebo palmojádrový s vysokým obsahem nasycených mastných kyselin (92,3 – 96,5%)

s vysokým podílem kyseliny laurové a myristové, které mají silné aterogenní účinky. Z hlediska kardiovaskulárních onemocnění nemá mléčný tuk výhodné složení, ale tuk přítomný v námi analyzovaných sušených sójových nápojích je ještě výrazně horší.

Tabulka 5. Obsah tuku (%) a složení mastných kyselin v % z celkových mastných kyselin tuku sušených sójových nápojů z roku 2012

	Vzorek	Obsah tuku v %	TFA	SAFA	MUFA	PUFA
1	Zajíc Natural	26,4	38,49	27,31	32,68	1,52
2	Zajíc Plus	22,3	38,05	24,15	35,41	2,39
3	Zajíc Smetana	26,2	38,47	24,04	36,46	1,03
4	SojaMilk Natural	21,0	0,04	96,55	1,38	2,03
5	SojaMilk Ca+Lecithin	20,4	0,05	97,12	1,02	1,81

Zastoupení *trans*-nenasycených mastných kyselin ve výrobcích Zajíc bylo vysoké, v průměru 38 %, přičemž sušený sójový nápoj Zajíc je na některých internetových stránkách prezentován jako výrobek, který působí preventivně proti vzniku civilizačních chorob, chrání srdce a cévy. Příjem TFA přitom představuje rizikový faktor vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Konzumací 1 sklenice tohoto nápoje (přibližně 30 g prášku na 250 ml teplé vody) by byl naplněn tolerovatelný denní limit pro příjem TFA, který činí 2,5 g TFA.

U výrobků SojaMilk byl obsah TFA v řádu setin. Velmi vysoký byl naopak obsah nasycených mastných kyselin, které taktéž podporují rozvoj cévních onemocnění. Obsah SAFA byl v průměru 97 %. Doporučený denní příjem SAFA činí < 10 % z celkového denního příjmu. Vzhledem k obsahu tuku ve výrobcích SojaMilk (v průměru 21 %), by byl tento limit naplněn při konzumaci více než 3 sklenic nápoje.

Srovnáme-li výsledky studie z roku 2009 s letošním rokem, je třeba říci, že došlo k určitému snížení obsahu *trans*-nenasycených mastných kyselin (cca o 10 %). Obsah nasycených kyselin se nesnížil, naopak došlo u některých vzorků k mírnému zvýšení. Z výsledků analýz plyne, že výrobci stále používají hydrogenované tuky nebo tuk kokosový nebo palmojádrový a tudíž tyto výrobky z hlediska výživového nepůsobí pozitivně.

Závěr

Sójové nápoje jsou zpestřením sortimentu potravinářských výrobků a potřebným výrobkem pro vegany a lidi nesnášející laktosu nebo mající alergii na mléčné výrobky. Pro zdravou populaci by však v žádném případě neměly sloužit jako náhrada mléka, protože se jedná o potravinu zcela jiného složení. Složení sušených sójových nápojů je z hlediska výživového velmi nevýhodné, jak bylo podrobně uvedeno v textu. O významu pro výživu mnoho napoví surovinové složení a údaje o obsahu jednotlivých živin, a proto je nutné sledovat údaje na etiketě, zvláště při použití těchto výrobků pro výživu dětí, těhotných a kojících žen a starších lidí.

Literatura

Anděl M., Bayer M., Dlouhý P., Dostálová J., Drbohlav J., Kunešová M., Nevoral J., Tláskal P.: Mléko a mléčné výrobky ve výživě, potravinářská komora České republiky, Praha 2010

Benk, E: Ind. Obst. u. Gemüseverwert, 71, s. 390, 1986

Kadlec P., Melzoch K., Voldřich M a kol.: Co byste měli vědět o výrobě potravin?, KEY Publishing s.r.o., Ostrava, 2009

USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 23 (2010)

Wikipedia, free encyklopedia (http://en.wikipedia.org/wiki/Soy_milk, 15.4.2011)

R 11**MONITORING VÝSKYTU HERBICIDU GLYFOSÁTU V ČOČCE PRODÁVANÉ NA ČESKÉM TRHU**

Hrbek V., Urbanová J., Vodrážka P., Kocourek V., Hajšlová J.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha, Technická 5, 16628 Praha 6

Úvod

Luštěniny patří do skupiny potravinových komodit s vysokou nutriční hodnotou a pozitivními vlivy na lidské zdraví, proto je doporučováno, aby byly zahrnuty do lidské stravy. Za určitých okolností mohou luštěniny obsahovat látky škodlivé pro lidské zdraví, jako jsou kontaminanty, které se mohou dostat do plodiny během pěstování nebo skladování. Tyto kontaminanty mohou být například pesticidy, které se používají v moderních zemědělských postupech.

Tato studie byla zaměřena na glyfosát (*N*-(fosfonomethyl)glycin), širokospektrální herbicid, který patří mezi nejčastěji používané přípravky na hubení plevelů. V posledních 15 měsících byla čočka resp. překročení MLR pro glyfosát v čočce předmětem 19 hlášení v evropském systému rychlého varování pro bezpečnost potravin a krmiv (RASFF) [1]. Podle Evropské unie byl až do 25.5.2012 maximální limity reziduí (MLR) pro glyfosát v suché čočce stanoven na hladině 0,1 mg/kg. Dne 25.5.2012 bylo oficiálně potvrzeno přehodnocení MLR (EU Commission Regulation No. 441/12) pro glyfosát v suché čočce a hodnota limitu navýšena na hladinu 10 mg/kg. Hodnoty pro ostatní luštěniny zůstaly nadále stejné: suché fazole: MLR = 2 mg/kg, suchý hrách a cizrna MLR = 10 mg/kg.

Po dlouhou dobu byl glyfosát považován pro živočichy za relativně nízko toxickou/netoxickou látku, bez karcinogenních nebo teratogenních účinků. Nicméně, nedávné studie přinesly důkazy o nežádoucích účincích na lidské zdraví.

Glyfosát je velmi polární analyt, a proto nemůže být stanovena pomocí konvenčních multireziduálních metod. Z těchto důvodů je pro stanovení glyfosátu použita speciální analytický metoda, single residue method (SRM). V naší studii byly rezidua glyfosátu stanovovány pomocí LC-MS/MS dle metodiky vydané Evropskou referenční laboratoří pro rezidua pesticidů [2].

Bylo nakoupeno poměrně velké množství vzorků čočky a několik vybraných ostatních luštěnin dostupných na českém trhu. Výsledky analýzy ukázaly, že nový současný maximální limit reziduí pro glyfosát nebyl ve vzorcích čočky překročen. V rámci této studie, byly provedeny i kulinární experimenty, které představovaly domácí vaření čočky a bylo posuzováno množství rezidua glyfosátu v konečném uvařeném pokrmu.

Vzorky

Celkem bylo nakoupeno 26 vzorků luštěnin na českém trhu. Z toho bylo 18 vzorků čočky (čočka velkozrná, červená, žlutá, černá, hnědá, zelená), 14 konvenčních vzorků čočky a 4 vzorky bio čočky. Pro zjištění možné kontaminace ostatních luštěnin rezidui glyfosátu bylo zakoupeno několik vzorků hrachu, fazolí, cizrny.

Jak se glyfosát dostane do čočky?

Na Obr. 1. je znázorněna cesta resp. možný způsob kontaminace čočky. Čočka v období své sklizňové zralosti obsahuje velké množství vody, což komplikuje mechanickou sklizeň zrn. Pro usnadnění mechanické sklizně je tedy potřeba snížit obsah vody v zrnech čočky a z tohoto důvodu se několik dní před sklizní aplikuje postřik totálního herbicidu glyfosátu, kdy dojde k uschnutí čočky resp. k žádanému snížení obsahu vody pro mechanickou sklizeň. Aplikace pesticidního postřiku však přináší i negativní fakt a to ten, že v čočce zůstávají rezidua glyfosátu, která jsou přítomna i v konečném produktu určeném pro spotřebitele/konzumenty.



Obr. 1. Znáznornění způsobu kontaminace čočky glyfosátem.

Příprava vzorku

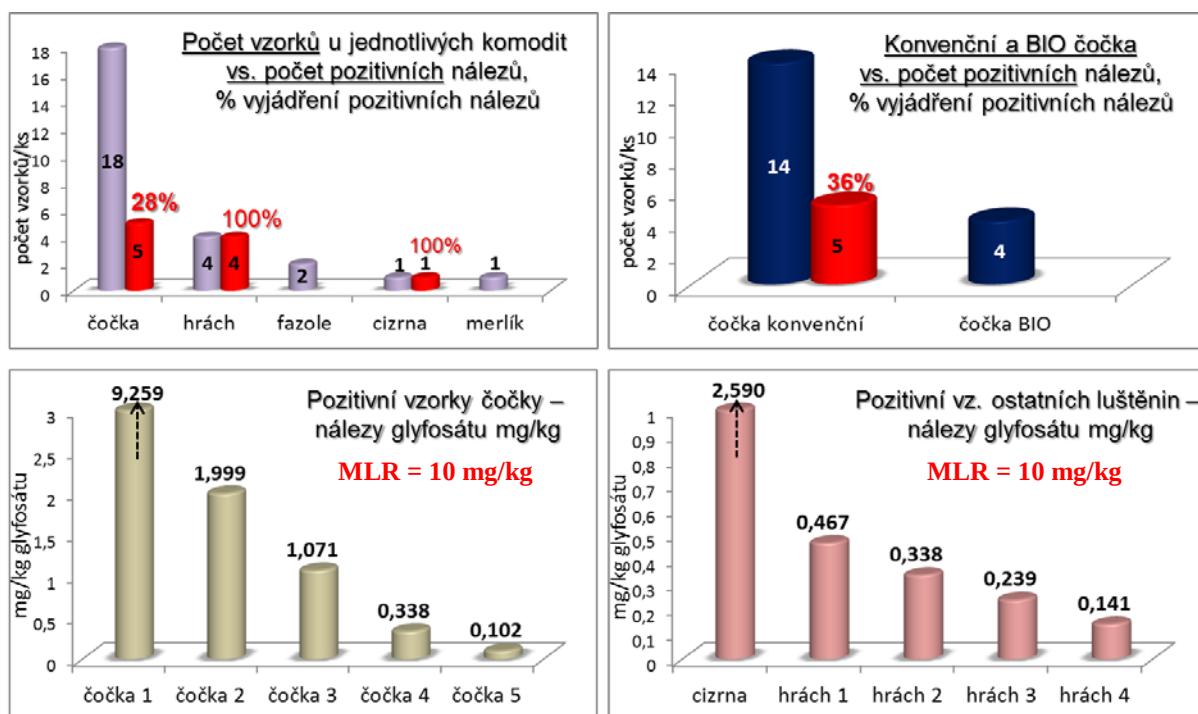
Vzorky luštěnin byly zhomogenizovány a bylo naváženo 5 g vzorku do 50ml plastové kyvety. Z důvodu sorpce glyfosátu na sklo musí celý extrakční postup probíhat pokud možno bez použití skleněných prvků. Ke vzorku bylo přidáno 10 ml deionizované vody, pro zvýšení obsahu vody v matici, a 30 min se počkalo, aby došlo k inkorporaci vody do matrice, bobtnání. Poté bylo ke vzorku přidáno 10 ml methanolu okyseleného 1% kyseliny mravenčí a vzorek byl 1 min intenzivně ručně protřepáván. Následně byl vzorek odstředěn (5min, 10 000 rpm, 5°C) a supernatant/extrakt byl přefiltrován přes mikrofiltr do označené plastové vialky. Takto připravený vzorek byl analyzován metodou LC-MS. U všech vzorků byl proveden nejprve screening na přítomnost rezidua glyfosátu. V případě pozitivního nálezu byl vzorek znovu extrahován tentokrát s přidavkem vnitřního izotopově značeného standardu glyfosátu (Glyfosát 1,2- $^{13}\text{C}_2$ 15N) pro zpřesnění výsledku nálezu rezidua glyfosátu. Kvantifikace byla prováděna pomocí matričních kalibračních standardů metodou kalibrační křivky s korekcí na izotopově značený standard glyfosátu.

Analýza vzorku

Analýza glyfosátu byla provedena pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) ve spojení s tandemovým hmotnostním analyzátořem typu (QLIT, kvadrupól – lineární iontová past). Měření bylo prováděno v režimu MRM (multiple reaction monitoring), kdy byly monitorované specifické MRM přechody pro glyfosát. Byla použita ionexová chromatografie (kolona: Dionex AG11 2x50 mm, zapojení dvou těchto kolonek za sebou), gradient dvousložkové mobilní fáze 15% methanol ve vodě a druhá složka byla 1mM kyselina citrónová ve vodě s přidavkem dimethylaminu 0,5 ml/0,5l mobilní fáze. Základní pracovní charakteristiky metody pro glyfosát: limit kvantifikace rezidua glyfosátu v čočce LOQ = 0,040 mg/kg (platí obecně pro suché matrice s nízkým obsahem vody, navážka 5g, koncentrace matrice v extraktu 0,25 ng/ml), výtěžnost 98% (stanovena pomocí spiku na hladině 0,4 mg/kg v šesti opakováních).

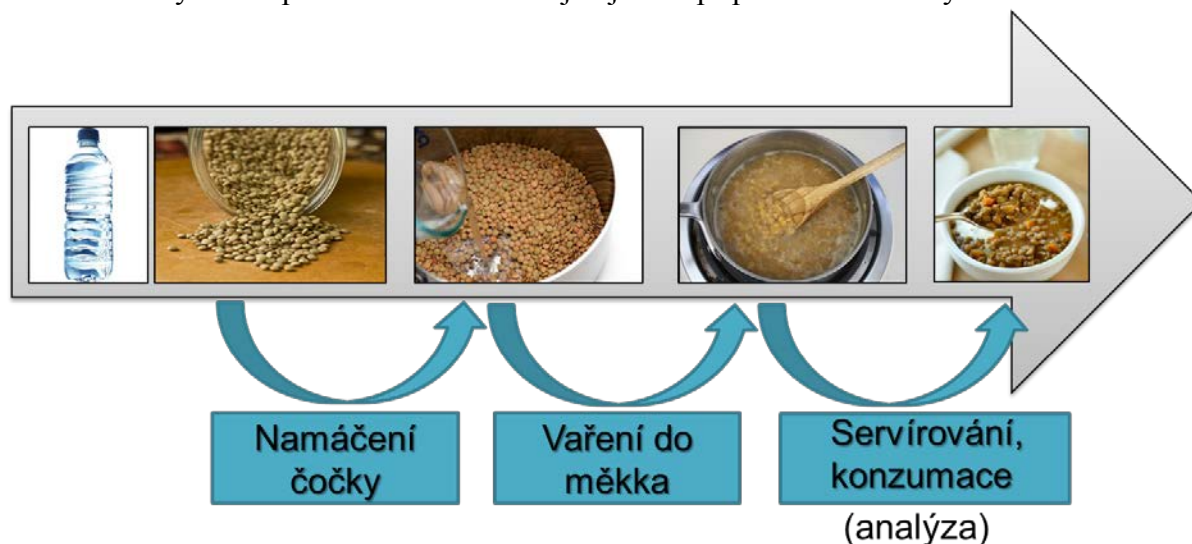
Výsledky a diskuse

Z celkově analyzovaných 26 vzorků luštěnin bylo nalezeno 10 pozitivních vzorků na rezidua glyfosátu (38% pozitivních nálezů). Vztaheno pouze na vzorky čočky, bylo analyzováno 18 vzorků čočky a bylo nalezeno 5 pozitivních nálezů rezidua glyfosátu v čočce, všechny tyto pozitivní nálezy se týkaly vzorků konvenčních čoček, bio čočky byly negativní na přítomnost reziduí glyfosátu. V případě ostatních luštěnin byly 4 pozitivní nálezy reziduí glyfosátu v hrachu a jeden pozitivní vzorek cizrny. Vzhledem k současným/novým hodnotám MLR lze říci, že žádný z pozitivních vzorků čočky, nepřekročil svým obsahem rezidua glyfosátu MLR. U ostatních luštěnin také nedošlo k překročení MRL. Jednotlivé nálezy, procentické vyjádření pozitivních nálezů vůči celkovému počtu analyzovaných vzorků a konkrétní hodnoty pozitivních nálezů reziduí glyfosátu jsou znázorněna na Obr. 2.



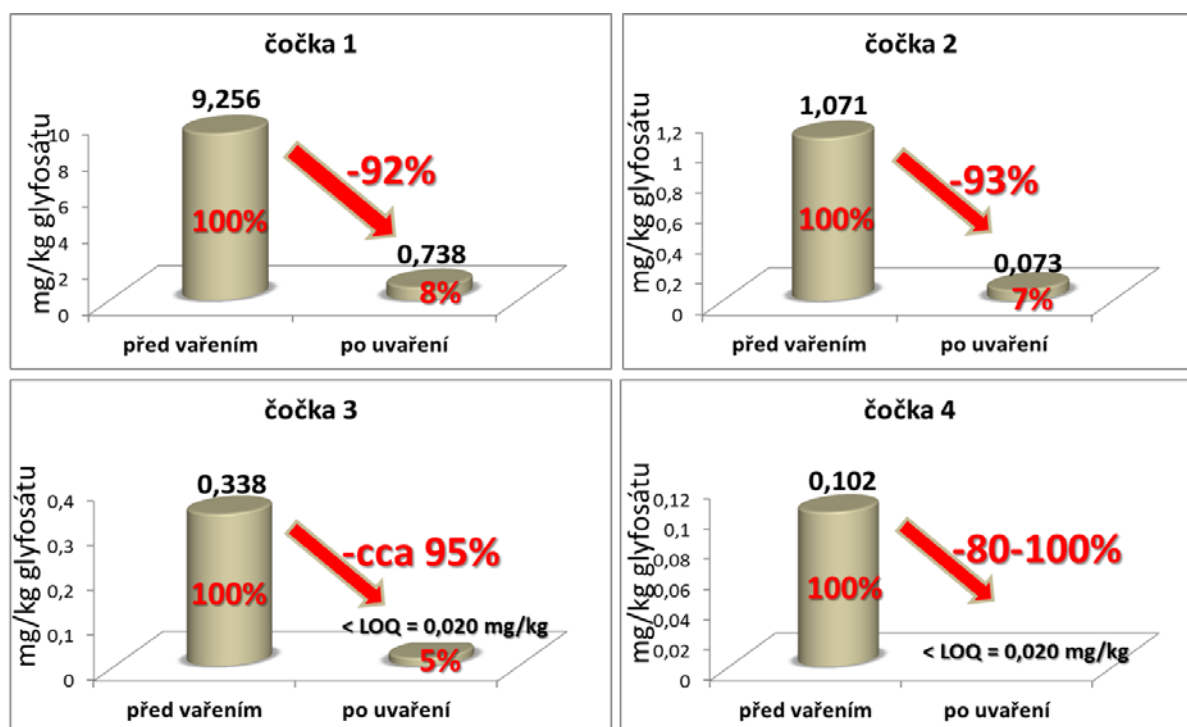
Obr. 2. Grafické znázornění výsledků analýz luštěnin na obsah reziduí glyfosátu.

Dále byla provedena kulinární úprava (vaření) 4 vybraných pozitivních vzorků čočky. Schéma jednotlivých kroků kulinární úpravy je znázorněno na Obr.3.. Vzorky čočky byly vařeny dle návodu, uvedeném na obalu jednotlivých vzorků čočky. V prvním kroku byla čočka namočená ve vodě, dále byla čočka dle návodu vařena v téže vodě do měkka a následně byl zbytek vody slit a uvařená čočka byla homogenizována a analyzována na přítomnost rezidua glyfosátu. V tomto případě byla navážka vzorku, díky vyššímu obsahu vody v matrici, zvýšena na 10 g, přidáno 2,5 ml deionizované vody a dále probíhala extrakce stejně jako v případě suché čočky.



Obr.3.: Schéma jednotlivých kroků při kulinární úpravě čočky.

Výsledky kulinárních úprav 4 vybraných pozitivních vzorků čočky jsou znázorněny na Obr.4. Z obrázku je patrné, že ve všech 4 případech došlo během kulinární úpravy čočky k zhruba více jak 90% úbytku obsahu rezidua glyfosátu.



Obr. 4. Grafické znázornění výsledků získaných z experimentů s kulinární úpravou čočky.

Závěr

Čočka

- 5 vzorků (28%): pozitivní na glyfosát, rezidua v rozmezí 0,1 - 9,3 mg / kg
- maximální limity reziduí pro glyfosát v čočce nebyl překročen v žádném z pozitivních vzorků
- bylo pozorováno výrazné snížení reziduí glyfosátu při kulinární úpravě čočky (vaření) a to o více než 90%

Glyfosát byl zjištěn také v jiných druzích luštěnin, nicméně všechny vzorky vyhověly MLR.

Tento projekt byl realizován v rámci specifického univerzitního výzkumu (MSMT č. 21/2012) financovaného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

Reference

- [1] <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/>
- [2] http://www.crl-pesticides.eu/library/docs/srm/meth_QuPPe.pdf

R 12**MONITORING ESTROGENNÍCH LÁTEK V MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH Z TRŽNÍ SÍTĚ**

Krtková V., Novotná H., Smutná L., Schulzová V., Hajšlová J.:

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Klíčová slova: fytoestrogeny, metabolismus fytoestrogenů, UHPLC-MS/MS**Úvod**

Fytoestrogeny jsou biologicky aktivní látky, které jsou významné pro svou podobnost se savčími hormony estrogeny. Jsou přirozenou součástí rostlin, vznikají jako forma ochrany proti nepříznivým podmínkám. Fytoestrogeny jsou běžnou součástí potravin a krmiv. Za hlavní a významné zdroje fytoestrogenů jsou pokládány luštěniny (především sojové boby) a pícniny (jetel luční či vojtěška setá), které bývají často součástí krmiva. Sekundárně se mohou fytoestrogeny vyskytovat v živočišných materiálech, kam přecházejí po expozici potravou, jež je jejich zdrojem. Při zkrmování píce s vysokým podílem jetele nebo vojtěšky hospodářskými zvířaty, či při jejich dokrmování sójovým šrotem, vstupují fytoestrogeny do potravního řetězce. V organismu savců jsou metabolizovány na produkty, které vykazují obecně vyšší estrogenní aktivitu než původní formy (např. přeměna vázaných forem glukosidů na aglykony a příslušné metabolity).

Fytoestrogeny se podle struktury dělí na isoflavony, prenylflavonoidy, pterokarpany a lignany. Díky svému charakteru hrají důležitou roli při snižování rizika estrogen-dependentní rakoviny prsu a menopauzálních obtíží. Při zvýšeném příjmu mohou mít však i negativní účinky.

Cíl práce

Cílem realizované studie bylo sledování hladin fytoestrogenů daidzeinu, genisteinu, glyciteinu, formononetinu, biochaninu A a metabolitu ekvolu ve vzorcích mléka a mléčných výrobků v tržní síti. Za tímto účelem byly v řetězcích supermarketů Billa spol. s.r.o., Tesco Store ČR a.s. a Kaufland Česká republika zakoupeny vzorky mléka, jogurtů a sýrů. Porovnávány byly vzorky z konvenční i ekologické produkce.

Dále v rámci krmeného experimentu byla sledována exprese fytoestrogenů z krmiva do mléka dojníc. Jednalo se o 4 vzorky krmiva (pokusné s přidavkem sóji a kontrolní s nízkými hladinami sojových isoflavonů) a 12 vzorků mléka dvou dojníc, kterým bylo postupně ve 2 periodách toto krmivo podáváno.

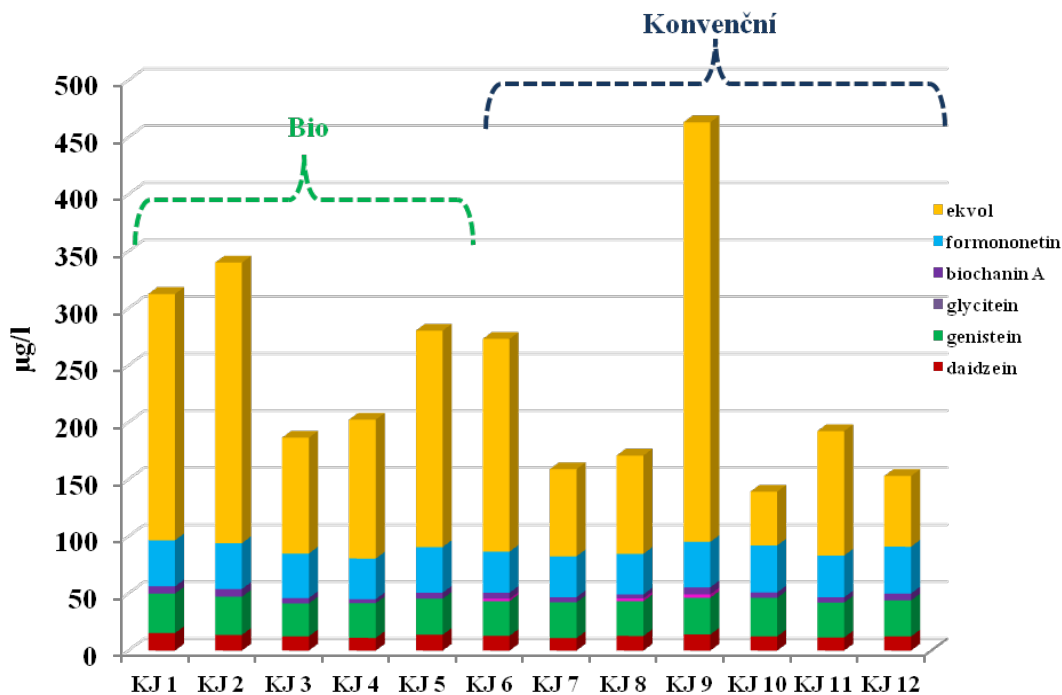
Analytická metoda

Vzhledem k rozdílné polaritě jak jednotlivých skupin fytoestrogenů (isoflavony vs. lignany), tak i v rámci jedné skupiny (isoflavonní glykosidy vs. aglykony), není možné izolovat všechny látky stejně efektivně. Pro izolaci fytoestrogenů z matrice bylo využito přímé extrakce (stanovení volných fytoestrogenů) a enzymové hydrolýzy (stanovení celkových fytoestrogenů). Výsledky jsou dále uváděny pro celkové fytoestrogeny. Ke stanovení fytoestrogenů byla využita optimalizovaná a validovaná metoda ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UPLC - MS/MS). Analyty byly uvolněny z vázané formy enzymovou hydrolýzou a stanoveny ve formě aglykonu.

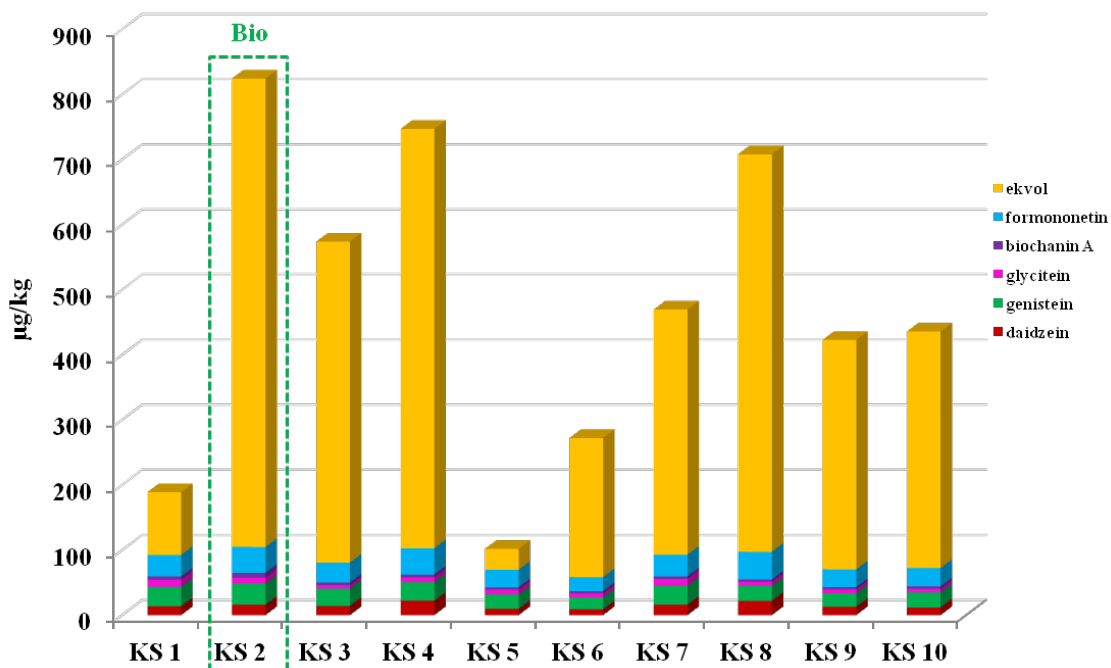
Pro separaci byla využita analytická kolona Acquity BEH C18 (50 x 2,1 mm; 1,7 μm) a jako mobilní fáze směs metanolu a 0,1% vodného roztoku kyseliny octové, gradientová eluce.

Výsledky a diskuze

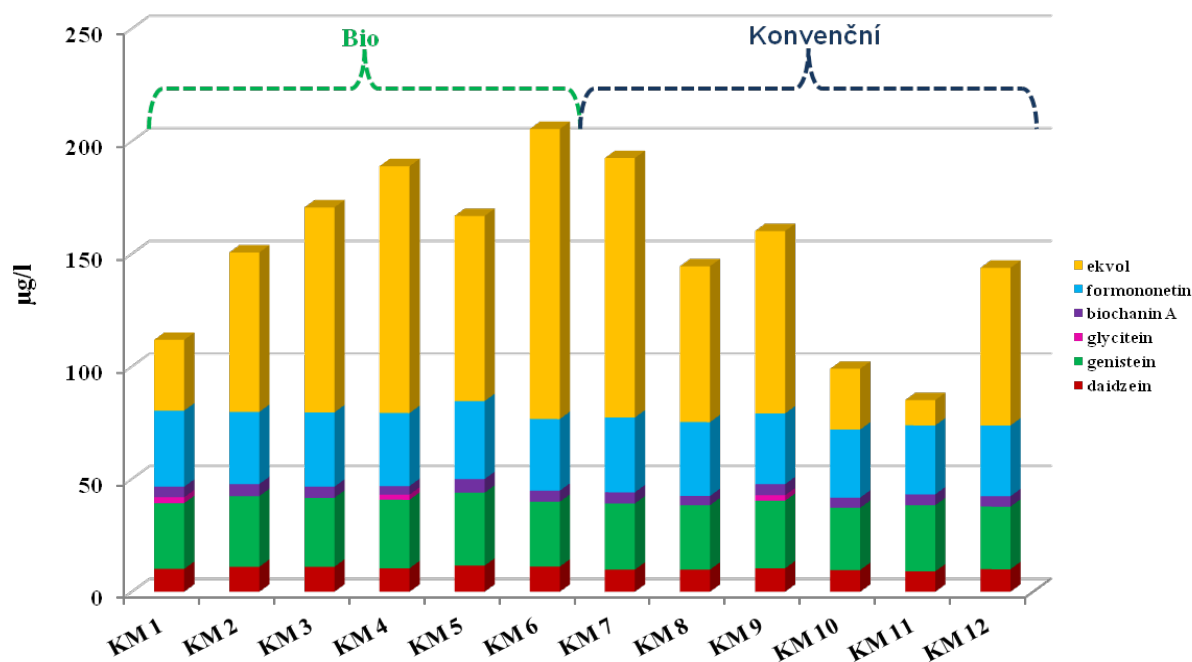
Na obsah fytoestrogenů bylo vyšetřeno 12 vzorků mléka (6 bio a 6 konvenčních), 12 vzorků jogurtů (5 bio a 7 konvenčních) a 10 vzorků sýra (1 bio) z obchodních řetězců, již výše zmiňovaných. Porovnání obsahu jednotlivých isoflavonů v jogurtech zobrazuje **Obrázek 1**. Hladiny isoflavonů nalezených v sýrech jsou uvedeny na **Obrázku 2**. Zastoupení sledovaných látek v mléce je ukázáno na **Obrázku 3**. Závislost obsahu celkových fytoestrogenů a metabolitu ekvolu v mléce dojnic na obsahu celkových fytoestrogenů v krmivu je graficky vyjádřena na **Obrázku 4**.



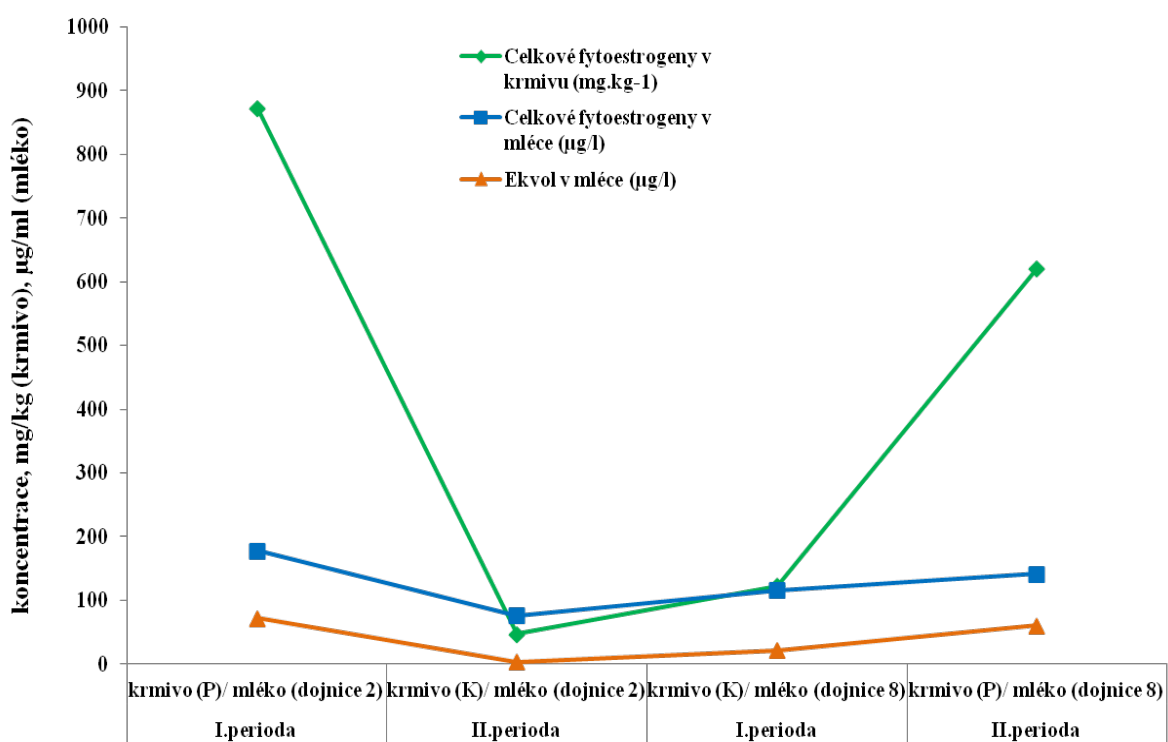
Obrázek 1. Porovnání obsahu isoflavonů ve vzorcích jogurtů



Obrázek 2. Porovnání obsahu isoflavonů ve vzorcích sýrů



Obrázek 3. Porovnání obsahu isoflavonů ve vzorcích mlék



Obrázek 4. Expres isoflavonů z krmiva do mléka dojníc

Závěr

Ve vzorcích z tržní sítě dosahoval průměrný celkový obsah isoflavonů 170 µg/l v mléce, 241 µg/l v jogurtech a 474 µg/kg v sýrech.

Nejvíce zastoupeným fytoestrogenem v analyzovaném mléce a mléčných produktech je metabolit ekvol. Jeho obsah se liší ve vzorcích v závislosti na podávaném krmivu a individuální schopností dojnice biotransformovat jeho prekurzory. Obsah ekvolu se v mléce pohyboval v rozmezí 11 - 129 µg/l (průměr: bio- 85,6 µg/l, konvenční- 62,3 µg/l), v jogurtech 67 - 368 µg/l (průměr: bio- 175 µg/l, konvenční 134 µg/l) a v sýrech bylo rozpětí koncentrací 32 - 719 µg/kg (vzorek bio- 719 µg/kg, průměr konvenční- 354 µg/kg). Rozdíl v obsahu isoflavonů mezi bio a konvenčními vzorky nebyl statisticky významný, t-test ($\alpha = 0,05$).

V mléce dvou vybraných dojnic byl sledován obsah fytoestrogenů v závislosti na podávaném krmivu. U dojnic, které byly krmeny kontrolním krmivem (K- složené ze sena a siláže, obsah fytoestrogenů 47 a 122 mg/kg), bylo v mléce obsaženo celkem 76 µg/l (dojnice č.2) a 115 µg/l (dojnice č.8). V opačné periodě, kdy bylo dojnicím podáváno krmivo pokusné (P- obohacené o sóju, obsah fytoestrogenů 620 a 873 mg/kg), činily nálezy celkových fytoestrogenů 141 µg/l (dojnice č.8) a 178 µg/l (dojnice č.2). Dojnice č. 2 zvýšila produkci ekvolu v pokusné periodě 22 krát oproti periodě kontrolní, dojnice č. 8 pouze 3 krát.

Poděkování

Tato studie byla realizována za podpory projektu MSM 6046137305, MSM 2678846201 a 2B08073 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky a účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum č.21/2012.

Literatura

1. Gilbert J., Senyuva Z.: Bioactive compounds in foods. *Blackwell Publishing*, 2008.
2. Moravcová J.: Vliv fytoestrogenů na symptomy menopauzy a rakovinu prsu. *Interní medicína pro praxi*, 2008, 11, 10, 517-519.
3. Velíšek J, Hajšlová J.: Chemie potravin 3. *OSSIS Tábor*, 2009.
4. Sakakibara H., Viala D., Ollier A., Combeau A., Besle J.-M.: Isoflavones in several clover species and in milk from goats fed clovers. *BioFactors* 2004, 22, 237–239.
5. Mazur W.: Phytoestrogen content in foods. *Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1998, 12, 4, 729-741.
6. Beck V., Rohr U., Jungbauer A.: Phytoestrogens derived from red clover: An alternative to estrogen replacement therapy?. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 2005, 94, 499–518

R 13**NOVÉ TRENDY V HODNOCENÍ KVALITY SYROVÉHO MLÉKA**

MVDr. Ivan Kadlec

Milcom servis a.s

Ve slavnostním 100. čísle Mlékařských listů a formou rozhovoru v Potravinářské revue, ročník 2007, číslo 1 byl publikován můj článek **Kvalita syrového mléka, historické mezníky a vývoj jejího hodnocení**. Rád bych po několika letech na něj navázal a to zejména na vize té doby a skutečný další vývoj.

Je možno konstatovat, že díky vybudování systému zpeněžování a hodnocení kvality syrového mléka v centrálních laboratořích v 80. letech minulého století, přebírání evropské legislativy a požadavků na kvalitu mléka byly u nás vytvořeny již v této době základní předpoklady pro moderní systémy hodnocení syrového kravského mléka a zvyšování jeho kvality.

**Postupující centralizace**

Vizí, která se potvrdila, je v celém světě další výrazná centralizace a automatizace. V Bavorsku, které bylo naším vzorem a kde jsme čerpali a často čerpáme i nyní zkušenosti, pracuje jen laboratoř Milchprüfing Wohlzahn, v Dánsku laboratoř v Holstebro pracující i pro některé zakazníky skandinávských zemí, k centralizaci došlo i v sousedním Rakousku atd. U nás došlo k zastavení činnosti 7 centrálních laboratořích, v činnosti zůstala jen laboratoř Madety a.s. v Českých Budějovicích. Většinu hodnocení převzaly laboratoře Českomoravské společnosti chovatelů pro rozbor mléka Buštěhrad a Tuřany, provádějící analýzy pro kontrolu užitkovosti dojnic. I síť těchto laboratořích byla centralizována z původních 5 ti laboratořích. Rovněž ve Slovenské republice byla činnost z původních 5 ti centrálních laboratořích centralizována do 2 v Bratislavě a Žilině a 1 laboratoře Plemenářských služeb SR v Žilině pro analýzy ke kontrole užitkovosti dojnic.

Škoda, že centralizace v našich podmínkách proběhla živelně v duchu tržního hospodářství bez hlubší spolupráce jednotlivých zainteresovaných partnerů. To jistě komplikuje život laboratořím v možnostech jednotných softwarových systémů, identifikace a svozu vzorků, interpretace výsledků a jejich zpracování, přípravě svozných a nákupních rajonů na nové systémy. Dodnes např. neznáme výsledky jakosti za ČR, ale pouze za jednotlivé laboratoře, respektive jejich majitele atd. Zahraniční vzory ukazují cestu ve společném majitelství laboratořích rozhodujícími partnery a jejich svazy a úzké spolupráci těchto partnerů v osvětové a dalších činnostech včetně vědeckovýzkumné základny a Tiergesundheitsdienst.

Automatizace

Automatizované hodnocení mléka je metodou, bez které si v současné době není možno představit kontrolu syrového mléka pro jeho zpeněžování. Podle Dr. Baumgartnera (MPB Milchprüfing Bayern) představitele AFEMY je ročně vyšetřováno v oficiálních laboratořích pro zpeněžování mléka a kontrolu užitkovosti 300-500 mil.vzorků mléka.

Vedle požadavků na zdravotní nezávadnost mléka daných EU předpisy (CPM, PSB, Inhibiční látky), jsou rutinně vyšetřovány obsahové látky, zejména tuk a bílkovina, ale také laktóza, sušina, tukuprostá sušina a další. V některých zemích jsou vedle těchto parametrů ještě vyšetřovány např. koliformní a sporotvorné bakterie, termorezistentní a psychrotrofní mikroorganismy, případně i specifické patogenní mikroorganismy a senzorické parametry. K dispozici jsou i kalibrace umožňující posouzení zdravotního stavu a výživy dojnic na základě vyšetření obsahu močoviny, kyseliny citronové a ketogenních látek v mléce. Významným faktorem, který je rovněž možno hodnotit, je i obsah kaseinu v mléce jako rozhodujícího faktoru pro výrobu sýrů a výtěžnost. V řadě případů jsou na laboratořích a výrobcích mlékárenských výrobků vyžadovány zejména pro export i další analýzy jako bod mrznutí mléka, stanovení popelovin, nitritů a nitrátů, alergenů, radioaktivity, antiparazitik atd.

Nové koncepty v analytice syrového mléka vedou za pomoci jednotných referenčních hodnot a materiálů, vývoje hluboce zmrazených standard pro syrové mléko, mezinárodních kruhových testů od nezávislých systémů jednotlivých laboratoří, regionů, zemí k vybudování jednotného referenčního systému, s realizací jednotné měřicí úrovně. Hluboce zmrazené standardy umožňují i srovnání různých šarží těchto materiálů, s možností i zpětných srovnání a zajištění preciznosti a srovnatelnosti výsledků. Zdrojem variací výsledků mohou být laboratoře, používané chemikálie atd., k preciznosti výsledků proto přispívá i snaha o jednotné pracovní postupy a vybavení laboratoří. I laboratoře v ČR jsou napojeny na tuzemská a mezinárodní referenční centra. Příkladem naší dobré spolupráce je např. dlouholetá vazba s akreditovaným centrem MIH - Dr. Hüfnera v oblasti kontroly stanovení mikrobiologické kvality mléka a počtu somatických buněk.



Arbeitsgruppe zur Förderung von Eutersundheit und Milchhygiene in den Alpenländern

Byl jsem poctěn stát se členem této skupiny téměř před 20 ti lety. Na letošních již 24. Baumgartenberger Fachgespräche v Greinu v Dolním Rakousku pořádaných skupinou AFEMA, přednesl svůj příspěvek také pan Harrie van den Bijgaart ze společnosti Qlip v Holandsku. Zabýval se tématem „Kvalita mléka a zdraví mléčné žlázy a aktuální situace v Holandsku.“

AFEMA organizuje řadu osvětových akcí a seminářů v řadě zemí a to nejen alpských. I když původním posláním této skupiny bylo udržení výroby a kvality mléka v podmínkách alpských zemí, její členové se v současné době aktivně účastní řešení problémů kvality mléka, přípravy evropské legislativy i národních předpisů, jsou představiteli laboratoří, svazů, mlékáren, univerzit atd. Stálo by jistě za úvahu pod její hlavičkou uspořádat akci i u nás, případně i ve spolupráci s kolegy ze Slovenska a dostat k nám řadu představitelů nejen AFEMY, ale přímo jejích členů, a významných odborníků z praxe. Chtělo by to ale získat sponzora této akce, abychom nejen získali řadu poznatků pro účastníky, ale mohli i prezentovat naši zemi a náš agrokomplex.

QLIP – Moderní automatizované analýzy mléka

Společnost Qlip je holandskou akciovou společností založenou v roce 2007, zabývající se kvalitou mléka a jeho kontrolou pro zpeněžování a kontrolu užitkovosti a dalšími soukromými úlohami.

Akcionáři jsou: Farmářský svaz, Mlékařský svaz, Obchodní organizace.

Jako služby poskytuje svým členům, případně i dalším organizacím :

- Audity, inspekce a certifikace
- Analýzy syrového mléka a mlékárenských výrobků
- Pilotní a kalibrační vzorky, kruhové testy
- Poradenství

**Společnost má 2 pracoviště : Zutphen
Leusden**

Svoje šance společnost spatřuje ve zvyšování efektivity, zvyšování přidané hodnoty, nových vývojů i těsné spolupráci se svými zákazníky a dalšími partnery. Mezi významné partnery patří i Tiergesundheitsamt (Úřad pro kontrolu zdraví zvířat), jehož jedno z hlavních těžišť práce je Tiergesundheitsdienst a zdravotní stav mléčné žlázy a jeho kontrola.

Za své inovace Qlip považuje :

Pro farmáře: - stanovení močoviny a ketolátek pro kontrolu zdraví a úpravu krmných dávek
signalizaci ketóz

- stanovení původců zánětů mléčných žláz
tradiční bakteriologická vyšetření, PCR vyšetření
rychlá mikrobiologie, PCR *Listeria* a *Salmonella* vyšetření
- indikaci březosti
- certifikaci zdraví a dobrý zdravotní stav

Pro mlékárny : - rozšiřování certifikací do oblasti energie, vody a odpadů

Multikomponentní analýzy reziduí veterinárních léčiv a prostředků a pesticidů

Mimořádně účinný laboratorní systém umožňuje v laboratoři Zutphen zpracovat až 9000 vzorků pro zpeněžování mléka a 40-60 000 vzorků denně pro kontrolu užitkovosti. Výsledky analýz poskytuje **flotila FOSS analyzátorů** vybavených systémem automatických robotických pipet pro automatický převod mléka. Skupina analyzátorů se skládá ze 14 přístrojů **CombiFoss pro analýzu obsahových složek mléka a somatických buněk, 4 samostatných MilkoScanů a další větve tvoří BactoScan analyzátory** pro stanovení CPM. Předpokladem pro plně automatizované analýzy mléka je dobrá funkce celého dopravního systému. Laboratoř je propojena dopravními pásy od analyzátoru k analyzátoru.



Systém nabízí nejen možnost obrovského množství zpracování vzorků, ale i jejich flexibilního zpracování. Je založený na identifikaci vzorků pomocí **RFID (radiofrekvenční identifikace)**. RFID pracuje na základě naprogramovaných čipů, obsahujících všechna identifikační data a požadavky na analýzy. Každý vzorek pro zpeněžování mléka je opatřen vlastním čipem. Ve vazbě **se systémem GPS** slouží po registraci v laboratoři k záznamu plánu jednotlivých analýz, k automatickému řízení posunu vzorkovnic k jednotlivým analyzátorům, evidenci analýz atd. GPS systém slouží pro přesné stanovení polohy svozových cisteren, sběr hospodářských dat a předávání zpětných informací farmářům o výsledcích analýz. Po dokončení analýz je čip automaticky odstraněn a připraven na opakované použití. Plastové vzorkovnice jsou recyklovány. Při kontrole užitkovosti je čip uložen na konci každého nosiče skupiny vzorkovnic. Pokud farmář požaduje pro management stáda specifické analýzy, může požadavek na tyto analýzy zaznamenat v čipu pro jeho laboratorní analýzu.

Analýzy pro zpeněžování mléka.

Znak	Frekvence prověřování	Požadavek
Tuk, bílkovina, laktóza, močovina	každá dodávka	
Nenasycené mastné kyseliny *	každá dodávka	(u 400 vybraných dodavatelů)
Inhibiční látky	každá dodávka	negativní
CPM	2x měs.	do 100 000 / ml
PSB	2 x měs.	poslední výsledek a geom. průměr do 400 tis. /ml
Plynotvorné clostridie	1x měs.	negativní
Čistota	1x měs.	negativní
Volné mastné kyseliny	každá dodávka	měs. stř. hodnota do 1 mmol/100 g tuku
Bod mrznutí	každá dodávka	měs. stř. hodnota do - 0,505 °
Trichlormetan	2x ročně	do 0,20 mg/ kg tuku

Změny v holandských předpisech pro zpeněžování mléka umožnily vedle standardních a obligatorních testů i vysokou volnost v podmínkách a analýzách. To umožnilo plnit požadavky jednotlivých mlékáren na specifická vyšetření podle výrobních programů, např. u sýráren na bakterie máselného kvašení, belgické mlékárny zpracovávající holandské mléko požadují testy na koliformní bakterie atd.

S pokrokem v oblasti automatizovaných dojících systémů (robotizace) se výrazně oživil zájem o testování volných mastných kyselin. Od 1.1.2010 je zpeněžováno mléko u všech holandských farmářů podle měsíčního průměru volných mastných kyselin, analyzovaných IR technologií přístroji MilkoScan.

*Vedle volných mastných kyselin laboratoř Qlip stanovuje u souboru 400 vybraných farem i **nenasycené mastné kyseliny** s cílem výroby mléka s požadovanými mastnými kyselinami a výroby mlékárenských produktů **s vysokým podílem Omega-3 a CLA mastných kyselin..** Podle složení mastných kyselin je možno posuzovat i abnormality mléka a falšování dodávek přimícháváním jiných druhů mlék. Analýza se provádí souběžně s běžnými analýzami a nevyžaduje zvýšené provozní náklady v laboratoři. Firma Foss nabízí celý balíček kalibrací **s možností stanovení nasycených, nenasycených, mononenasycených, polynenasycených a C 18:0,16:0 a 18:1 mastných kyselin.** Jak se říká, první vlaštovky, t.j. potenciální zájemce o toto hodnocení se objevil již i u nás.

Multikomponentní analýzy reziduí a kontaminantů.

V rámci těchto analýz je prováděn monitoring a survey.

Monitoring

Antibiotika
Antiparazitika
Aflatoxin M1
Dioxiny
Organochloropesticidy
Trichlormetan v másle
Těžké kovy
Radiaktivita

Survey

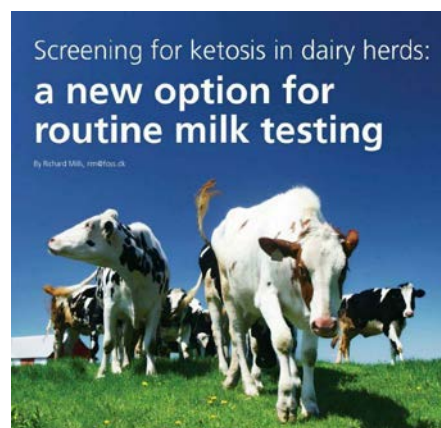
Chloramfenikol
Triclabendazole
Pesticidy
Melamin*
Kyselina kyanurová
Furan



*Melamin (falšování obsahu bílkovin v mléce) je možno seriově analyzovat vedle jeho dalších posláních např. NIR analyzátořem **Infraxact** firmy FOSS.

Managment stáda

Moderní FTIR technologie poskytují dostatečně přesné výsledky pro management stáda a dávají farmářům možnost přijímat operativní opatření na základě výsledků analýz, zejména močoviny a nově i ketolátek. S hodnocením močoviny IR technologií pro posouzení bílkovinného metabolismu dojníc a aplikací výsledků do výroby mléka máme u nás vlastní zkušenosti. Novinkou posledních let je **screening ketózy na základě stanovení ketolátek BTB (betahydroxybutyrátu) a acetonu.** Ketózy se u mléčného skotu vyskytují v případech deficitu energie, která nepokrývá dostatečně produkci dojníc. Důvodem může být i zúžený poměr živin mezi koncentrací NL a energie. Ke klinické ketóze dochází v důsledku acidózy, nebo jiných poruch a snížení příjmu potravy při stálé produkci mléka. Dojnice mobilizují tuk z depozit, v játrech dochází ke konverzi tuku na glukózu a uvedené ketolátky jsou vylučovány jako rezidua. K indikaci úrovně ketolátek v mléce mohou být využity **FTIR analyzátoři, např. MilcoScan FT +**, pro které FOSS vyvinul jako odpověď na požadavek asociace DHI (Dairy herd improvement - kontrola užitkovosti krav) kalibrace pro rutinní screening jako součást běžného testování mléka.



Farmáři tak mohou na základě výsledků činit příslušná opatření ve výrobě mléka a výživě dojníc. Jako první tento screening nabídla farmářům společnost Qlip.

Laboratoř nabízí i výsledky kontroly pro stanovení březosti a výsledky rychlých mikrobiologických vyšetření pro stanovení původců zánětů mléčných žláz, případně i další vyšetření.

Firma FOSS ve spolupráci s Dánskou federací pro skot a společností DeLaval vyvinula i systém-Herd Navigátor pro prvovýrobu mléka k monitorování jeho kvality v průběhu dojení a management stáda. Jedná se o následující specifické testy. Systém do prvovýroby nabízí firma DeLaval a to již i na našem trhu.

- Počet somatických buněk k posouzení zdravotního stavu dojníc
 - Screening ketolátek k posouzení zdravotního stavu a prevenci
 - Stanovení hladiny progesteronu k identifikaci březosti dojníc
 - Stanovení močoviny pro posouzení bílkovinné a energetické
- Bilance

O nových metodách bakteriologických vyšetření podal informaci na výše citované akci AFEMA pan Dr. Gottfried Schoder z Tiergesundheitsdienst OÖ(Oberösterreich). Provedl srovnání klasických metod, imunologických metod Elisa, FTIR spektroskopie využívající charakteristických infračervených spekter mikroorganismů, které mohou být srovnány se spektry v databance. V laboratoři Qlip našla uplatnění vedle klasických vyšetření metoda **PCR pracující na principu polymerázové řetězové reakce a detekující genomovou (jadernou) a plastidovou DNA**. Metoda dává výsledky během několika hodin, obchodně je nabízen např. **Pathoprof mastitis test – Kit pro identifikaci až 12 původců mastitid, StartCheck Kit k vyšetření mléka z úchovných tanků na Staphylococcus aureus atd.** Testy jsou vhodné zejména jako doplňující metody pro stanovení původců u akutních mastitid a negativních klasických posouzení. Při vyšetření mléčných filtrů bylo např. ze 30 vyšetřených závodů zachyceno 15 pozitivních na St. aureus, přičemž 3 pozitivní výsledky byly zachyceny u 15 bakteriologicky negativních.

Závěrem své přednášky podal i informaci o poloautomatickém systému **Micronaut Merlin** pro identifikaci a testování bakterií a kvasinek a jejich citlivosti na antibiotika a antitumorka.

Výhodou nových testů je jejich vysoká citlivost a specifita, časná identifikace původců mastitis z bazénových vzorků mléka či mlékárenských tanků, redukce používání antibiotik a snížení ztrát mléka.

V oblasti analýzy potravinářských výrobků, tedy i mlékárenských je nové trendy možno spatřovat vedle využívaných moderních laboratorních řešení především v rozšíření nabídek **in-line, on-line a at-line řešení**.

- **In-line** přímo ve výrobní lince se nachází průtoková cela nebo čidlo
- **On-line** přístroj ve výrobě, vzorek do něj přichází by passem
- **At-line** mimo linku přímo v provozu, analyzované vzorky se do přístroje vkládají ručně
- **Off-line** ostatní přístroje pro laboratorní využití

V poslední době jsou významným přínosem v oblasti infračervené spektrofotometrie zejména

- **FTIR technologie**, která nabízí širokou možnost vývoje analýz zemědělských a potravinářských produktů a dalších nových parametrů ve vazbě na zajišťování kvality výrobků, jejich zdravotní nezávadnost, standardizaci výroby a zvýšení ekonomiky v celém sledu jejich výroby

- **Rozšíření nabídky NIR přístrojů** pracujících na principu transmise či reflektance
- **Globální „plug and play“ ANN kalibrace**
- **DDA technologie jako ekonomické řešení, možno využít i při ANN kalibraci**
- **Moderní , jednoduchá softwarová řešení umožňující i vzdálenou podporu přístrojů**, tato řešení využívají přední výrobci potravin a krmiv a klíčoví zákazníci firmy Foss i na našem trhu.



Uvedená řešení umožňují firmě FOSS v rámci její obchodní strategie vývoj jednotlivých řešení vždy pro daný sektor agrokomplexu a daný konkrétní druh výrobků . Zákazník tak dostává k okamžitému použití přístroj s vyvinutými kalibracemi na základě tisíců vzorků, s požadovanou přesností a opakovatelností. Firma vyrábí a dodává do agrokomplexu téměř 50 typů specifických přístrojů, řada z nich je dodávána ve více typech a kapacitách.

Vedle výše uvedených metod jsou samozřejmě využívány i další metody jako průtoková cytometrie, injekční průtoková analýza, mineralizační, destilační a extrakční metody, X-ray image analýzy pro stanovení cizích předmětů / kovů, kostí atd./ a další metody.

Řešení firmy Foss pro mlékařský průmysl představuje následující obrázek.



R 14**PŘÍSTROJE PRO HODNOCENÍ POTRAVIN**

Prokop J.

POLZ INSTRUMENTS s.r.o., Okružní 2326,54401 Dvůr Králové nad Labem www.polz.cz**FIREMNÍ PREZENTACE**

Využití měřicí techniky při definici barevnosti, vody, sušiny, tuků a bílkovin v potravinářských výrobcích.

R 15**CHEMICKÁ A FYZIKÁLNÍ ANALÝZA MEDU VS. SENZORICKÉ HODNOCENÍ**

Knápek J., Vošmerová D., Rittichová J.

Státní zemědělská a potravinářská inspekce, Inspektorát v Brně, Květná 15, 603 00 Brno

jan.knappek@szpi.gov.cz**1. ÚVOD**

Jak již bylo mnohokrát napsáno, mezi jednu z nejčastěji falšovaných komodit patří med. Soubor mezi falšovatelí a analytiky je nekonečný. Na jedné straně jsou běžnými, ale i vysoce sofistikovanými metodami měřeny jednotlivé parametry medů, na jejichž základě je prokazováno falšování, na druhé straně je snaha falšovatelů, aby jejich konání nebylo prokázáno. Proto postupy falšování upravují tak, aby alespoň základní chemické a fyzikální parametry medů nebyly mimo právními předpisy stanovené meze. Uprostřed tohoto je spotřebitel, který chce med jako všeobecně zdravý a doporučovaný produkt konzumovat. Možnosti spotřebitele, jak prokázat nevyhovující kvalitu medu, jsou velmi omezené a v naprosté většině případů se spoléhá na „senzorické“ hodnocení. Každý přece ví, jak má chutnat med. Cílem této práce je prokázat závislost či spíše nezávislost mezi analytickými parametry medu a senzorickým hodnocením.

2. CHEMICKÁ A FYZIKÁLNÍ ANALÝZA MEDU

Ke kontrole kvality medů je v laboratořích Státní zemědělské a potravinářské inspekce (SZPI) používána celá řada metod, které korespondují s chemickými a fyzikálními parametry uvedenými pro med ve vyhlášce č. 76/2003 Sb.. Jedná se např. o stanovení vlhkosti refraktometricky, elektrické vodivosti konduktometricky, kyselosti acidobazickou titrací nebo obsahu látek nerozpustných ve vodě gravimetricky. Dále potom stanovení obsahu cukrů (glukosy, fruktosy, sacharosy) a hydroxymethylfurfuralu pomocí HPLC. Všechny tyto metody jsou akreditovány a vycházejí z „Harmonised Methods of International Honey Commission“. Co se týká nejčastěji používaného falšování, kterým je nastavování medu cukernými sirupy, jsou k odhalování používány metody analýzy stabilních izotopů a metody sledující přítomnost cizích enzymů. Podpůrnou metodou je pylová analýza. V definici medu, uvedené ve vyhlášce, je mimo jiné uvedeno, že se do medu nesmějí přidávat žádné cizí látky včetně přídatných látek a naopak žádné látky nesmí být z medu odstraňovány. Povolené je pouze mísení medů, přičemž nesmí být k mísení použity medy filtrované a pekařské. V laboratoři SZPI jsou akreditovány izotopové metody, prokazující nepovolený přírůstek cukrů z C4 rostlin.

3. SENZORICKÉ HODNOCENÍ MEDU

Laboratoř SZPI inspektorátu v Brně disponuje senzorickou laboratoří vybavenou podle „ČSN ISO 8589 – Senzorická analýza – Obecná směrnice pro uspořádání senzorického pracoviště“ a panelem zkušených hodnotitelů, kteří mají osvědčení o složení základních senzorických zkoušek a část z nich i osvědčení o složení senzorických zkoušek pro hodnocení vína. Pracoviště má pro hodnocení medu akreditovanou metodu podle ČSN 57 0190. Med je definován podle vyhlášky 76/2003 Sb., odd. 2, §7: med je potravinu přírodního sacharidového charakteru, složená převážně z glukózy, fruktózy, organických kyselin, enzymů a pevných částic zachycených při sběru sladkých šťáv květů rostlin (nektar), výměšků hmyzu na povrchu rostlin (medovice), nebo na živých částech rostlin včelami (*Apis mellifera*), které sbírají, přetvářejí, kombinují se svými specifickými látkami, uskladňují a nechávají dehydratovat a zrát v plástech. Smyslové požadavky jsou uvedeny v příloze 3 uvedené vyhlášky (Tab. 1). Popsané smyslové požadavky jsou však bohužel velmi obecné a nezohledňují senzorické vlastnosti jednotlivých jednodruhových medů, které jsou v některých případech velmi specifické. Z tohoto důvodu jsou mnohé medy hodnoceny jako senzoricky vyhovující i v případě prokázání falšování.

Pro účely této práce neprobíhalo hodnocení medů jako v případě úřední kontroly, ale byl na základě literárních údajů (Piana M.L., et al., *Apidologie*, 2004) s omezeným využitím požadavků vyhlášky vytvořen podrobnější dotazník pro senzorické hodnocení medů a panel hodnotitelů byl

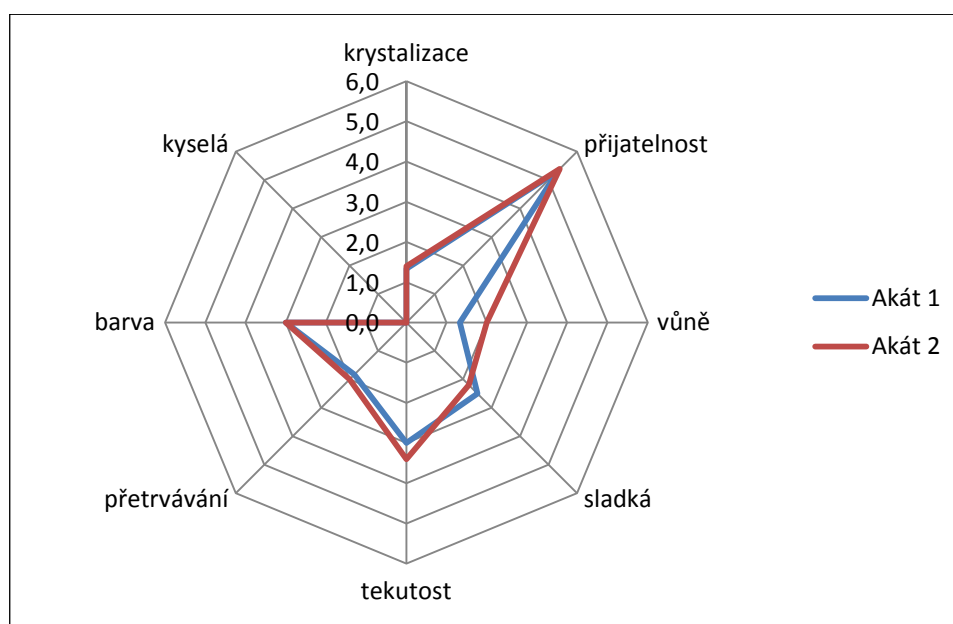
požadán, aby vzorky hodnotil z pohledu spotřebitele a co možná nejlépe popsal jednotlivé vjemy v chuti a vůni včetně jejich intenzity. Dále bylo součástí dotazníku popisné hodnocení konzistence medu. Hodnocené medy pocházely z tržní sítě a 60% jich bylo deklarováno jako směs medů z ES a zemí mimo ES.

Tab. 1: Smyslové požadavky na med

Med	Konzistence a vzhled	Chuť	Barva
Květový	Mírně až silně viskózní, tekutý, částečně až plně krystalický	Výrazně sladká až škrablavá	Vodově čistá až s nazelenalým nádechem, slabě žlutá až zlatavě žlutá
Medovicový	Mírně až silně viskózní, tekutý, částečně až plně krystalický	Sladká, popřípadě kořeněná až mírně škrablavá	Tmavohnědá s nádechem do červenohněda

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

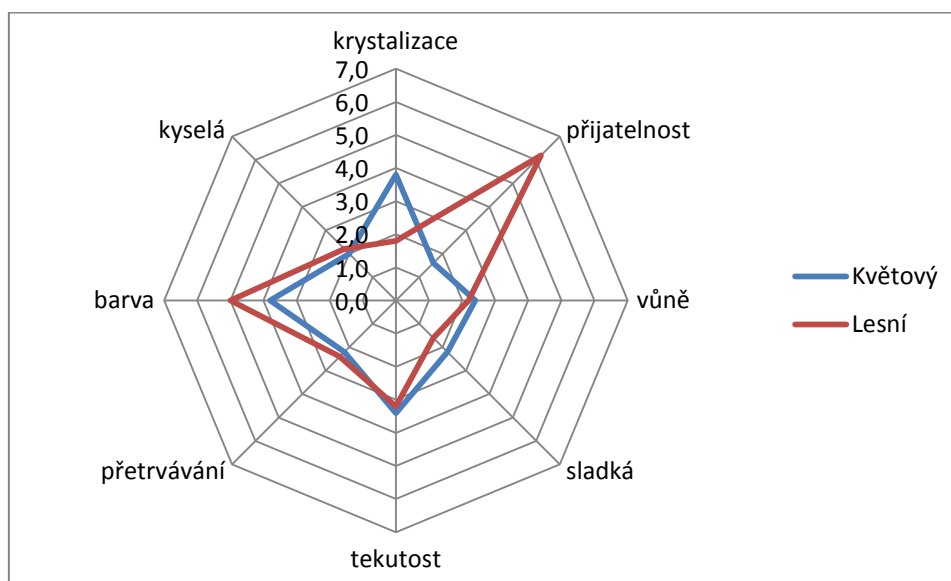
Výsledky získané z vyplněných dotazníků byly zpracovány dvěma způsoby. Jedním způsobem bylo vytvoření síťových grafů za účelem získání senzorického profilu, druhým způsobem bylo vyhodnocení celkové přijatelnosti medů v závislosti na fyzikálně-chemických parametrech. Na Obr. 1 je uvedeno vyhodnocení senzorického profilu. Do skupiny hodnocených medů byly zařazeny dva medy akátové, jejichž fyzikální a chemické parametry byly téměř shodné. Dalším důvodem pro jejich zařazení do studie byl přirozeně vyšší obsah sacharosy v tomto druhu medu. Ze získaných dat je vidět, že stejně jako fyzikálně-chemické parametry je shodný i senzorický profil obou medů.



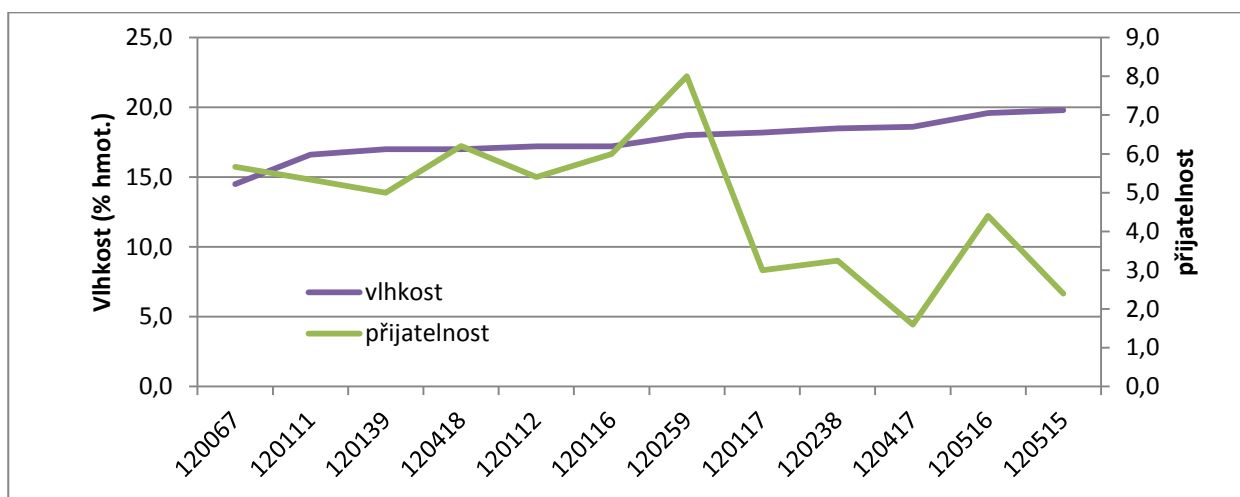
Obr. 1: Senzorický profil akátových medů

Dalším příkladem je soubor medů květových a lesních. Přestože med „lesní“ nemá oporu v legislativě, která zná jen med květový a medovicový, stále se ještě můžeme s tímto zažitým označením setkat. V našem hodnocení byl porovnáván med květový a med smíšený (směs květového a medovicového) označený jako „lesní“. Pro medy medovicové je typický nižší obsah cukrů a výrazně vyšší vodivost. To bylo potvrzeno i analytickým rozbořem, kdy obsah cukru (suma glukosy + fruktosy) u medu květového byl 74,4% hmot. a medu lesního 65,5% hmot. V případě vodivosti u medu květového byla 46,0 mS/m a u medu lesního 117 mS/m. Dalším zajímavým parametrem byla vysoká hodnota kyselosti 38,2 meq/kg u medu květového a 36,5 meq/kg u medu lesního. Na Obr. 2 můžeme vidět senzorické profily popisovaných medů. Med označený jako lesní

jednoznačně vítězí, přestože jsou oba hodnoceny jako středně kyselé. Dále je vidět i dost častá preference spotřebitelů k medům tmavší barvy, což medy medovicové bezesporu jsou. Pokud byly porovnávány medy domácí a zahraniční dosažené hodnocení bylo srovnatelné.



Obr. 2: Sensorický profil medu květového a lesního



Obr. 3: Porovnání vlhkosti a přijatelnosti

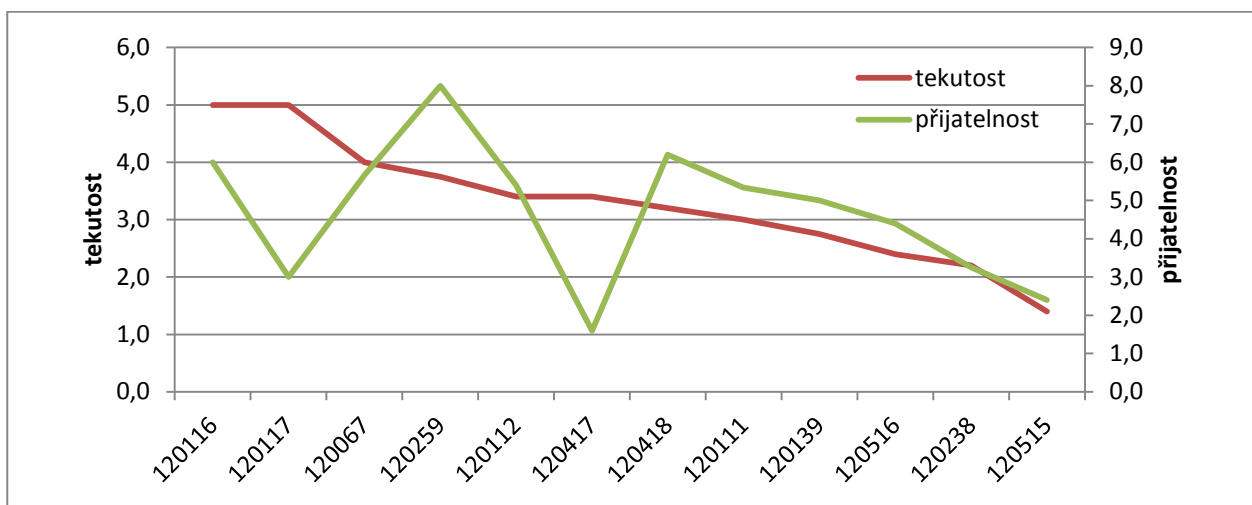
Při porovnávání jednotlivých parametrů s celkovou přijatelností medů z hodnocení vyplynulo, že ačkoliv žádný z medů nebyl nevyhovující, co se týká fyzikálně-chemických parametrů, i když některé se blížily mezním hodnotám, byly medy sensoricky pro hodnotitele hůře přijatelné.

Na Obr. 3 vidíme porovnání celkové přijatelnosti a vlhkosti hodnocených medů. Přestože žádný z medů nepřekročil maximální povolenou vlhkost 20% hmot., přibližně od 17% hmot. jsou medy hůře přijatelné. Tento jev souvisí i s tekutostí medů, protože čím je vlhkost medu vyšší, tím jsou medy tekutější a medy této konzistence nepůsobí na spotřebitele věrohodně (Obr. 4).

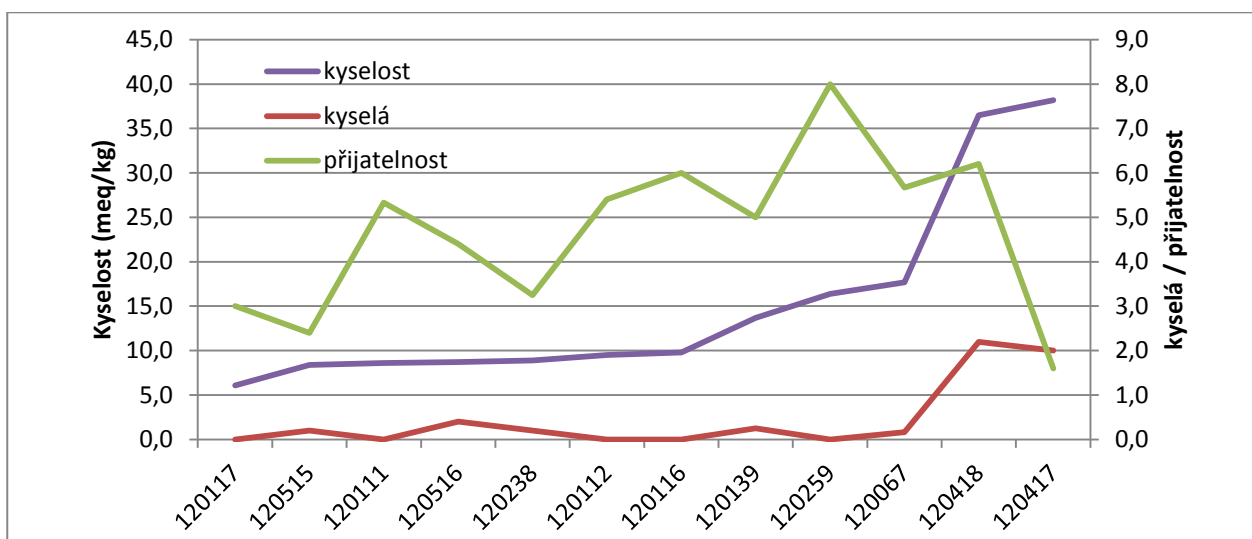
Na Obr. 5 je porovnání stanovené kyselosti medů se sensoricky hodnocenou kyselou chutí a přijatelností. Ani v tomto případě nebyla překročena maximální povolená hodnota kyselosti 50,0 meq/kg, ale medy s kyselostí vyšší jak 30,0 meq/kg jsou sensoricky hodnoceny jako středně kyselé. V případě srovnatelných hodnot kyselostí byla u medu lesního přijatelnost dobrá, ale med květový byl hodnocen jako téměř nepřijatelný.

Dalším zjištěním je, že medy tmavší barvy jsou spotřebiteli lépe přijímány, než medy světlé (Obr. 6). To souvisí s předsudkem, že tmavé medy jsou „lesní“, a tudíž zdravější. Přesto existuje

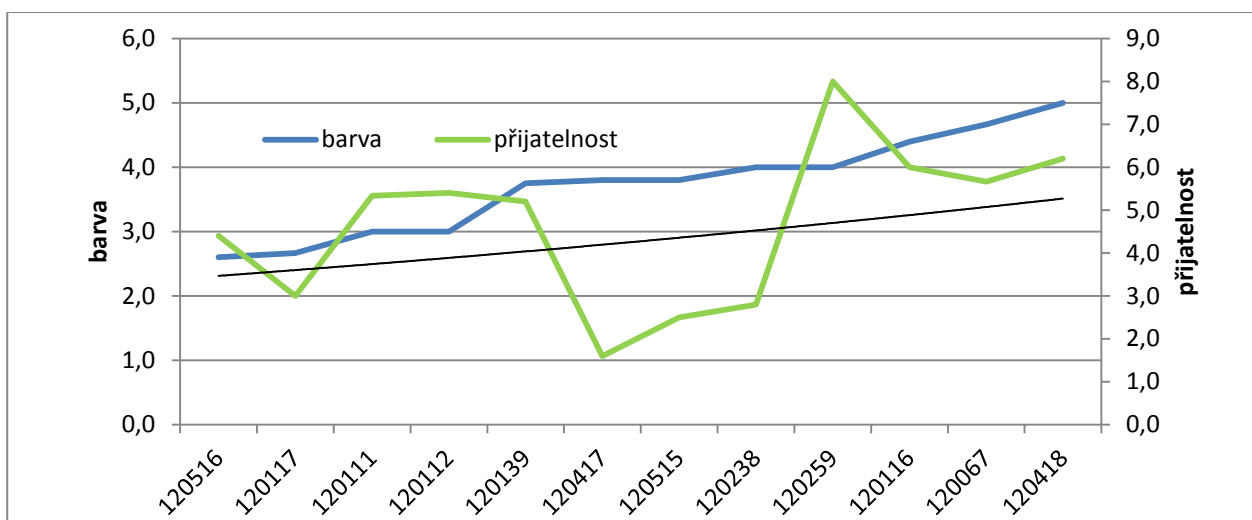
celá řada velmi světlých medů (např. lipový), jejichž kvalita není barvou nikterak ovlivněna, naopak jsou velmi aromatické po květech, ze kterých byl včelami sbírán nektar.



Obr. 4: Porovnání tekutosti a přijatelnosti



Obr. 5: Porovnání kyselosti s kyselou chutí a přijatelností



Obr. 6: Porovnání barvy a přijatelnosti

5. ZÁVĚR

Závěrem lze říci, že část hodnocených medů, přestože svými fyzikálně-chemickými parametry nepřekročila vyhláškou stanovené meze, je sensoricky vnímána jako téměř nepřijatelná. Dále mezi spotřebiteli přetrvávají mylné názory o kvalitě medu na základě jeho barvy nebo původu v „lese“. Zlepšení v této oblasti může přinést jen lepší informovanost spotřebitelů a rychlejší reakce zákonodárců v oblasti tvorby příslušných předpisů.

R 16**SENZORICKÉ VNÍMÁNÍ NÁHRAŽEK SOLI**

Panovská Z., Krausová K.

Ústav analýzy potravin a výživy, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28, Praha 6

ÚVOD

Chlorid sodný patří k velmi důležitým surovinám, které mají významné místo v potravinářském průmyslu. Uplatňuje se nejen při dosažení žádoucích organoleptických vlastností, ale je i významným konzervačním činidlem a má důležitou roli v některých technologických procesech. Příjem chloridu sodného z potravin je dlouhodobě sledován.

V roce 2005 publikovaly Ministerstvo zdravotnictví a sociálních služeb USA (U.S. Department of Health and Human Services) společně s Ministerstvem zemědělství USA (U.S. Department of Agriculture) výživová doporučení pro americkou populaci (Dietary Guidelines for Americans), kde uvedly limit spotřeby sodíku u dospělých 2,3g/den. American Heart Association vydala stejné doporučení. Odhaduje, že lidé konzumují téměř dvakrát vyšší množství, než je doporučená dávka, a že jejich denní příjem soli je asi ze 75 % ze zpracovaných potravin. V roce 2006 WHO (WHO – World Health Organisation) doporučila snížení příjmu sodíku populací, jako prevenci před kardiovaskulárními nemocemi. Navrhovaný příjem sodíku by měl být nižší než 5g/osobu a den. V roce 2008 byla vytvořena skupina The European Salt Action Network (ESAN), která měla za úkol shromažďovat údaje o spotřebě chloridu sodného v jednotlivých zemích a šířit informace o jeho dopadu na zdraví. V ČR na výzvu WHO zareagovali i významní členové Potravinářské komory ČR např. Hugli Food, Nestlé Česko, Unilever a Vitana, kteří se dobrovolně rozhodli snížit obsah sodíku v dehydratovaných výrobcích. Program, který byl zahájen počátkem roku 2009, má za úkol omezit obsah sodíku v dehydratovaných polévkách a v dehydratovaných hotových pokrmech, především těstovinách, na maximální obsah 1,2 gramu sodíku v jedné porci hotového pokrmu a to do roku 2014. Denní příjem NaCl ve vyspělých zemích se odhaduje na 8-15 g. Denní příjem soli cca 0,44 - 0,55g je dostatečný pro správnou funkci organismu dospělého člověka. Asi 10-12 % přijímaného sodíku se přirozeně vyskytuje v potravinách, 75 % přijatého sodíku je z předem zpracovaných potravin, nebo z konzumace jídel v restauracích, a zbylých 10-15 % zbývá na použití soli při domácím vaření nebo z dosolování si na stole. 20 - 30 % denního příjmu průměrného člověka je z masných výrobků. Požadavky na chemické a senzorické vlastnosti soli jsou uvedeny ve vyhlášce č. 331/1997 Sb.

Snížení obsahu soli bez změny organoleptických a technologických vlastností zůstává výzvou pro potravinářský průmysl. Existuje mnoho strategií jak limitovat použití soli v potravinách. Pro snížení obsahu sodíku při zachování intenzity slané chuti se používají náhražky soli, ale tyto sloučeniny mohou mít různé cizí příchutě např. hořkost či kovovou chuť. Cílem práce bylo senzoricky zhodnotit některé náhražky soli.

MATERIÁL A METODY

Byl připraven slepičí vývar, který byl rozdělen na 7 dílů po 1,5 l (receptura: 3,268 kg kuřecích křídel, 12 l vody, mírný var 1 h. Každý díl byl osolen NaCl/ náhražkou soli (Tabulka I a II). Vzorky kuřecích vývarů byly před hodnocením temperovány na teplotu 70°C až 80°C. Senzorické hodnocení probíhalo v senzorické laboratoři vybavené boxy podle mezinárodní normy ISO 8589 a příprava a předkládání vzorků bylo ve shodě s ISO 6658 – 1985. Zkušební místnost byla vybavena podle mezinárodní normy ISO 8589. Senzorického hodnocení kuřecího vývaru s přídavkem soli/náhražek soli se účastnilo 36 mužů a 98 žen ve věku od 19 do 29 let.

VÝSLEDKY A DISKUZE

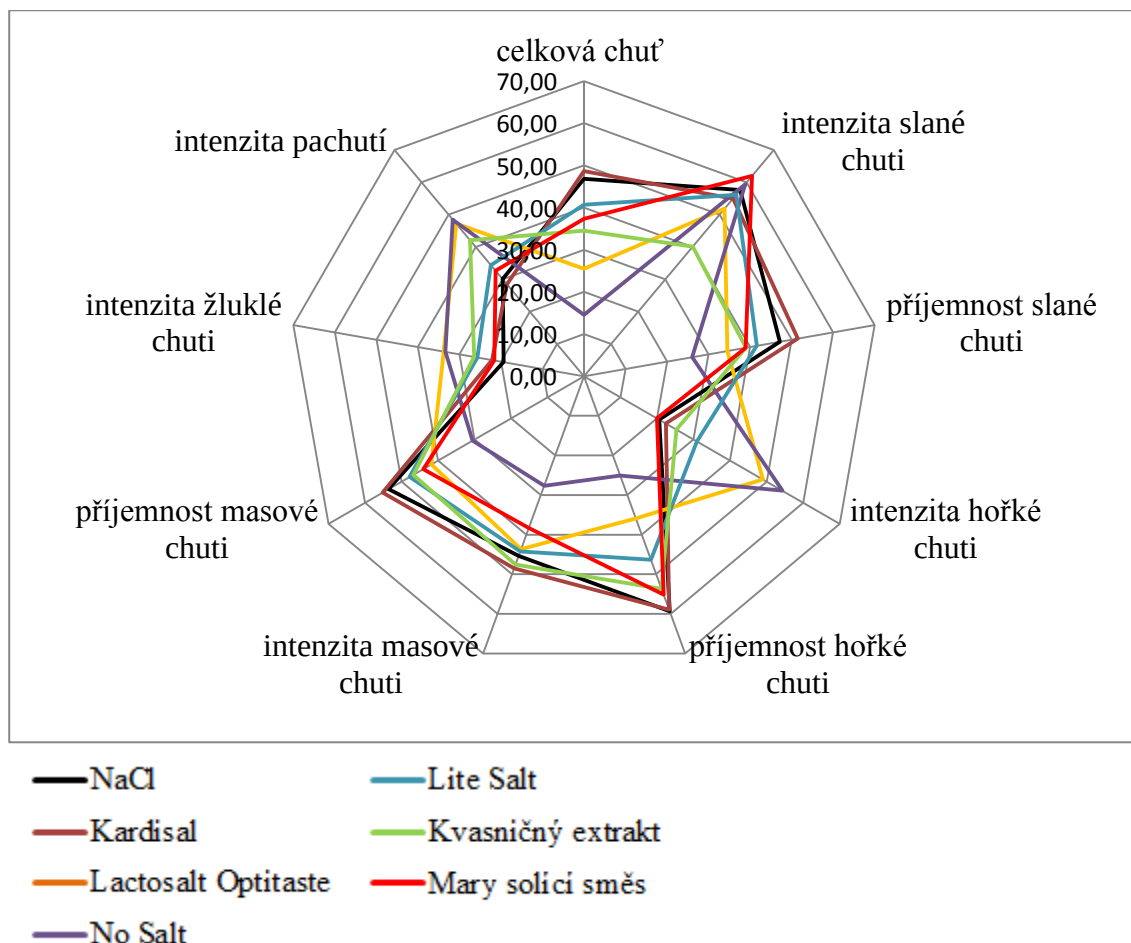
Výsledky senzorického profilu jsou zobrazeny na obr. 1. Obrázek 2 ukazuje rozptyl a hodnocení od jednotlivých posuzovatelů.

Tabulka 1. Popis používaných náhražek soli

	Výrobce/ distributor	Na⁺	K⁺	Složení
Lactosalt Optitaste	SENCO- CZ, s.r.o.	Max. 10 %	Max. 28 %	Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ , Cl ⁻ , proteiny, laktosa
Kardisal	Solivary, a.s.	Min. 27 %	Max. 21 %	Jedlá sůl, chlorid draselný, jodičnan draselný, ferrokyanid draselný
No Salt	French's® food	0 %	19 %	Chlorid draselný, vinan draselný, adipová kyselina, fumarová kyselina, oxid siřičitý, minerální olej
Lite Salt	Morton International	21 %	25 %	Chlorid sodný, chlorid draselný, křemičitan vápenatý, uhličitan hořečnatý, glukosa, jodičnan draselný
Mary solící směs	Solné mlýny a.s.	Max. 23 %	Max. 20 %	Jedlá sůl, chlorid draselný, sacharosa, propylgallát, jodičnan draselný
Kvasničný extrakt	Dar firmy Hugli Označení XSU 000317-	8 %	-	Bílkoviny, aminokyseliny, vitaminy, minerální látky

Tabulka II. Navážka NaCl/náhražky soli v kuřecím vývaru

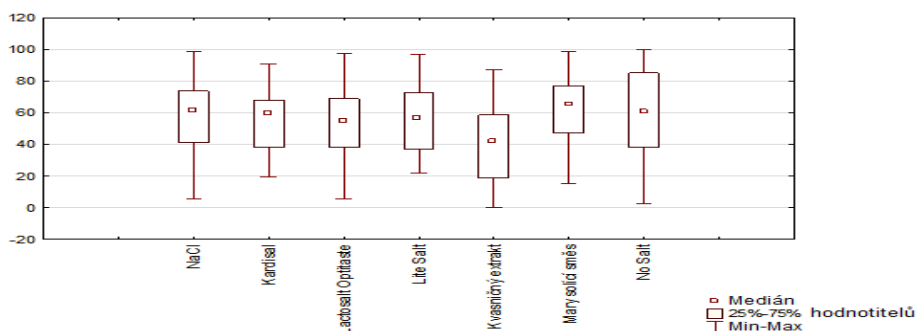
Vývar s přídavkem	Koncentrace [g/l]
NaCl	4,00
Kvasničný extrakt	3,00
Kardisal	4,68
Mary	4,48
Lactosalt Optitaste	8,36
No Salt	6,08
Lite Salt	5,44



Obr. 1. Senzorický profil soli a náhražek soli

U vzorků kuřecího vývaru se prakticky u všech náhražek soli projevilo výrazné zhoršení chuťového profilu, zejména pokles celkové chuti a nárůst intenzity hořké chuti a pachutí. Nejvíce se od chuťového profilu chloridu sodného lišily produkty No Salt a Lactosalt, naopak nejpodobnější chuťový profil měl Kardišal, kde byla nejen celková chuť, ale například i příjemnost slané a masové chuti, hodnoceny lépe než u standardu.

Bylo provedeno porovnání hodnocení mužů a žen. Z tohoto porovnání bylo patrné, že ženy vnímaly změny chuťového profilu citlivěji, v hodnocení jednotlivých vzorků byly u nich větší rozdíly a jednotlivé náhražky soli byly hodnoceny v průměru hůře, než u mužů.



Obr. 2. Krabicový graf znázorňující statistické vyhodnocení intenzity slané chuti kuřecího vývaru

Krabicový graf vypovídá zejména o tom, jak odlišně je intenzita slané chuti vnímána jednotlivými hodnotiteli – rozpětí minima a maxima nezřídka zaujímá celý rozsah 100 %. Rozmezí,

do kterého spadá hodnocení střední poloviny respondentů, bylo u všech vzorků relativně široké, což souvisí s rozdílným vnímáním slané chuti. Medián většiny vzorků měl v porovnání se standardem nižší hodnotu.

ZÁVĚR

Využívání náhražek pro snížení obsahu soli je jen jedna z cest jak dosáhnout tohoto cíle. Je nutné také vzít v úvahu, že jejich využitím přicházíme o přísun fluoru a jódu, kterými je sůl někdy obohacena. Důležitá je informovanost populace a osvěta, aby lidé snížili přísun soli při solení již hotových pokrmů, protože to tvoří zhruba 10% přísunu sodíku.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za podpory grantu MSM 6046137305.

LITERATURA

Alderman, M.; et al. Dietary sodium intake and mortality: the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES I). *Lancet* **1998**, 351, 781–785.

Nachay, K. Staying smart about salt, 2008. Bezpečnost potravin.

http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Kvasnickova/IFT_salt.pdf (accessed Nov 08, 2011).

Reducing salt intake in populations, Report of a WHO Forum and Technical Meeting; , Ed.; 2006.

Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích , pro koření, jedlou sůl, dehydratované výrobky a ochucovadla a hořčici. *Vyhláška č. 331/1997 Sb., ze dne 16. 12. 2008, kterou se provádí § 18 písm. a), d), h), i), j) a k)*

EFSA provides advice on adverse effects of sodium, 2005. EFSA.

<http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/nda050622.htm> (accessed Nov 17, 2011).

R 17**MYKOTOXINY V DOPLŇCÍCH STRAVY**

Vepřiková Z., Zachariášová M., Václavíková M., Džuman Z., Hajšlová J.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, zdenka.veprikova@vscht.cz

ÚVOD

Přírodní potravinové doplňky získávají v posledních letech vysokou oblibu a představují velmi významný obchodní artikl. Zvyšující se konzumace těchto preparátů potvrzuje snahu dnešních spotřebitelů o dosažení ideálního složení stravy. Důležité nutriční látky, které jsou v takovýchto výrobcích obsaženy, však neslouží pouze k doplnění jejich deficitu, ale mohou také hrát důležitou roli v prevenci četných degenerativních onemocnění, které jsou pro dnešní moderní dobu příznačné. Většina studií ukazuje, že hladiny nutričních látek, které jsou účinné pro prevenci nemocí, jsou mnohonásobně vyšší než jejich doporučené denní dávky. Vysoký příjem těchto látek tak lze získat pouze z potravinových doplňků. Přírodní potravinové doplňky na bázi rostlinných extraktů však mohou vedle různých zdraví prospěšných látek, jako jsou například vitamíny, minerální látky či antioxidanty, obsahovat potenciálně i různé přírodní toxiny. Tato práce byla konkrétně zaměřena na studium problematiky možné přítomnosti mykotoxinů, toxických sekundárních metabolitů plísní, v přírodních potravinových doplncích na bázi ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*). Antioxidační látky obsažené v této rostlině (silymarin) jsou všeobecně známy zejména díky svým blahým detoxikačním účinkům na jaterní buňky.

STANDARDSY A CHEMIKÁLIE

Standardy mykotoxinů byly zakoupeny u různých firem, konkrétně:

- i) u firmy Dynex s.r.o. (Buštěhrad, Česká republika) byly zakoupeny standardy nivalenolu, deoxynivalenolu, deoxynivalenol-3-glukosidu, fusarenonu-X, 3-acetyldeoxynivalenolu, 15-acetyldeoxynivalenolu, HT-2 toxinu, T-2 toxinu, diacetoscirpenolu, neosolaniolu, sterigmatocystinu, verruculogenu, ochratoxinu A, patulinu, peniciliové kyseliny, gliotoxinu, mykofenolové kyseliny, meleagrinu, paxillinu, stachybotrylaktamu, zearalenonu a jeho metabolitů α -zearalenolu a β -zearalenolu, aflatoxinů (B1, B2, G1, G2), citrininu, fumonisinů (B1, B2, B3), ergotoxinů (ergosin, ergometrin, ergotamin, ergokristin, ergokristinin, ergokornin, ergokorninin, ergokryptin, ergokryptinin, agroklavin)
- ii) u firmy Sigmy–Aldrich (Taufkirchen, Německo) byly získány standardy alternariolu, alternariolmethyletheru, tenuazonové kyseliny, verrucarolu
- iii) u firmy GeneTiCA s.r.o. (Praha, Česká republika) byly zakoupeny standardy beauvericinu, enniatinů (A, A1, B, B1), penitreinu A, roquefortinu C

Organická rozpouštědla použitá při přípravě vzorků a separaci (acetonitril, methanol) byly dodány firmou Sigma–Aldrich (Taufkirchen, Německo).

VZORKY

Vzorky potravinových doplňků na bázi ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*) byly zakoupeny v maloobchodní síti České republiky. Celkem se jednalo o 21 vzorků různé povahy jako tablety, tobolky, čaje, granulát a olejový koncentrát. Charakteristika vzorků, země původu a obsah účinné látky silymarinu/extraktu ostropestřce mariánského je uveden v **Tab. I**.

PŘÍPRAVA VZORKU

Izolace analytů z matrice doplňků stravy byla provedena modifikovanou metodou QuEChERS založené na extrakci analytů směsí acetonitril : voda a následném vysolení pomocí MgSO_4 a NaCl cílových analytů do horní acetonitrilové vrstvy, zatímco polární matriční koextrakty zůstaly ve fázi vodné. Dále byl acetonitrilový podíl purifikován za pomoci C18- modifikovaného sorbentu (Bondesil), díky čemuž došlo k vyvázání případných nepolárních koextraktů. Alikvotní podíl takto přečištěného extraktu byl přefiltrován za pomoci mikrofiltru a převeden do vialky. Takto připravený vzorek byl připraven k analýze.

Tab. I: Charakteristika zakoupených vzorků v maloobchodní síti ČR

Kód vzorku	Typ matrice vzorku	Výrobce	Informace o obsahu silymarinu/Ostropestřce mariánského z obalu výrobku
1	Tobolky s práškovým extraktem	Česká republika	195 mg silymarinu/tobolku
2	Tobolky s práškovým extraktem	Česká republika	20 mg sušeného extraktu Ostropestřce mariánského/tobolku
3	Čaj	Česká republika	Čajový sáček/2 g semen Ostropestřce mariánského
4	Tablety s práškovým extraktem	Česká republika	80 mg of silymarinového komplexu/tabletu
5	Tablety s práškovým extraktem	Česká republika	125 mg Ostropestřce mariánského v tabletě, 80% standardizovaného extraktu silymarinu
6	Bylinný granulát	Česká republika	3,6 - 4,2 g silymarinu/100 g produktu
7	Tobolky s práškovým extraktem	Austrálie	1 400 mg Ostropestřce mariánského/tobolku
8	Tobolky s práškovým extraktem	Costa Rica	—
9	Kapky	Slovensko	14,28% Ostropestřce mariánského
10	Olejový koncentrát bylinné drti	Česká republika	—
11	Tobolky s pastovytým extraktem	JAR	250 mg extraktu ze semen/tobolku
12	Tobolky s pastovytým extraktem	Česká republika	250±5% of silymarinu/tabletu
13	Tobolky s práškovým extraktem	Česká republika	250 mg extraktu ze semen/tobolku
14	Tobolky s pastovytým extraktem	Slovensko	140 mg silymarinu/tobolku
15	Tobolky s práškovým extraktem	Česká republika	100 mg standardizovaného extraktu Ostropestřce mariánského/tobolku
16	Tobolky s práškovým extraktem	Francie	390 mg extraktu ze semen, 1,5% obsahu silymarinu/tobolku
17	Tobolky s práškovým extraktem	Česká republika	70 mg silymarinu/tobolku
18	Semena Ostropestřce mariánského	Slovensko	—
19	Tablety s práškovým extraktem	Česká republika	70 mg of silymarinu/tabletu
20	Tablety s práškovým extraktem	Česká republika	50 mg extraktu Ostropestřce mariánského/tabletu
21	Tablety s práškovým extraktem	Česká republika	125 mg Ostropestřce mariánského v tabletě, 80% standardizovaného extraktu silymarinu

IDENTIFIKACE A KVANTIFIKACE

Identifikace a kvantifikace byla provedena pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie s využitím kapalinového chromatografu Acquity U-HPLC (Waters), k detekci analytů byl použit tandemový hmotnostní spektrometr QTRAP 5500 (Applied Biosystems). Díky širokému rozmezí fyzikálně-chemických vlastností mykotoxinů byly analyty rozděleny do dvou skupin (pozitivní a negativní ESI ionizace) na základě jejich optimálních parametrů pro MS/MS stanovení. Každý vzorek je tedy analyzován paralelně dvakrát, jednou v ESI+ a ESI- módu s využitím různých podmínek nastavení kapalinové chromatografie i hmotnostní detekce.

Kalibrační postup a výpočet koncentrace metodou standardního přídávku

Kalibrace byla provedena pro každý vzorek zvlášť. Nejprve byl připraven extrakt vzorku metodou uvedenou výše. Ke každému analyzovanému vzorku byla připravena kalibrační řada standardních přídávků směsného standardu ($c = 1000 \text{ ng/ml}$) do extraktu vzorku na hladinách 10, 50, 100 a 500 ng/ml.

Výtěžnost metody byla zjištěna analýzou vzorku s přídávkem standardu přímo do matrice na hladině 500 ng/g při každém měření. Po přídávku 500 μl směsného standard ($c = 1000 \text{ ng/ml}$) byl vzorek promíchán a ponechán stát minimálně 60 min při laboratorní teplotě, následně byl vzorek extrahován. Vyhodnocení naměřených dat bylo zpracováno pomocí programu Microsoft Excel, přičemž byla kontrolována linearita kalibrační křivky a rozptýl pomocí regresního koeficientu (R^2).

Výpočet koncentrace analytu ve vzorku metodou standardního přídávku s korekcí na výtěžnost:

$$c_A = (A_A/k) / (A_{A+sp500}/A_{A+50})$$

c_A	Koncentrace analytu
A_A	Plocha analytu
k	Směrnice kalibrační křivky
$A_{A+sp500}$	Plocha analytu ve „spiku“ na hl. 500 ng/g
A_{A+50}	Plocha analytu v kalibračním bodě na hl. 50 ng/ml

VÝSLEDKY A DISKUSE

Celkem bylo analyzováno 21 vzorků doplňků stravy na bázi ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*). Z celkového množství bylo 95% analyzovaných vzorků pozitivních na přítomnost fusariových a alternariových mykotoxinů, které se vyskytovaly ve vyšší či menší míře u většiny

vzorků, viz. **Obr. 1**. Ostatní mykotoxiny nebyly ve vzorcích detekovány v kvantifikovatelném množství.

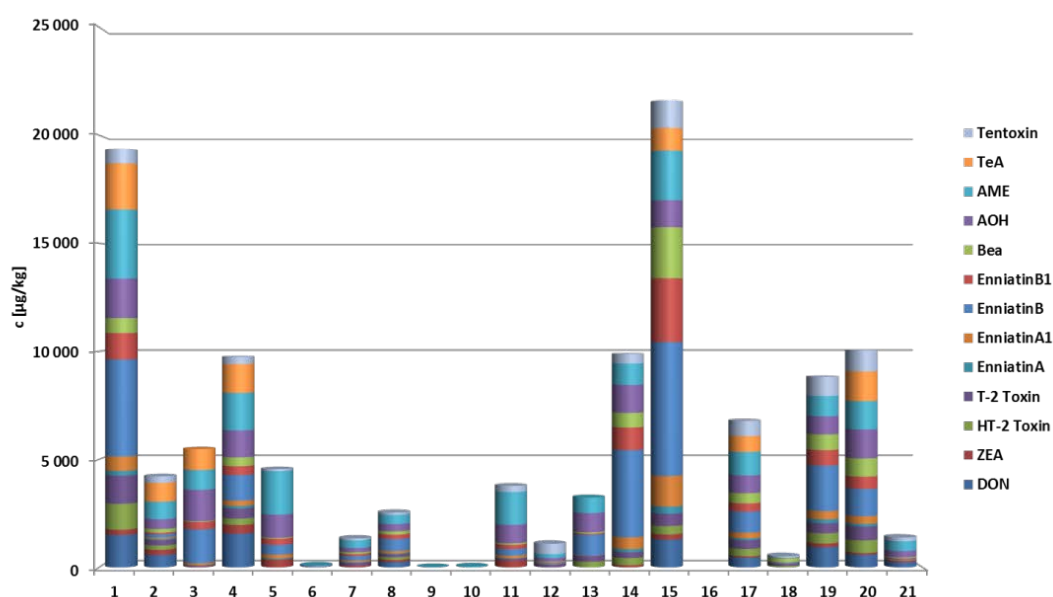
Následně byla provedena bilance obsahu mykotoxinů na obsah sylimarinu (jedná se o směs látek s antioxidačními účinky ostropestřce mariánského), který byl pokládán za marker obsahu rostlinného extraktu ostropestřce mariánského v matici daného doplňku stravy. Bylo předpokládáno, že s vyšším obsahem bylinného extraktu (sylimarinu) souvisí vyšší nálezy obsahu mykotoxinů, viz. **Obr. 2**.

U mykotoxinů, které mají Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (EFSA) stanoveny hodnoty tolerovatelné denní dávky (TDI), byl proveden přepočet množství toxinů obsažených v maximální denní dávce daného doplňku stravy na procenta TDI. U některých analyzovaných vzorků tvořilo množství přijatých mykotoxinů až několik desítek % TDI viz **Tab. III**. Například, když 70 kg člověk přijme 2 tobolky vzorku číslo 1, vyčerpá tím téměř 40% své denní dávky TDI určeného pro sumu T-2/HT-2 toxinů. Hrozí tedy překročení denního limitu TDI pro tyto mykotoxiny, které mohou být přítomny zejména ve snídaňových cereáliích a dalších produktech s cereálním základem, které se hojně vyskytují ve stravě. Je potřeba také podotknout, že není zcela známa kombinovaná toxicita mykotoxinů.

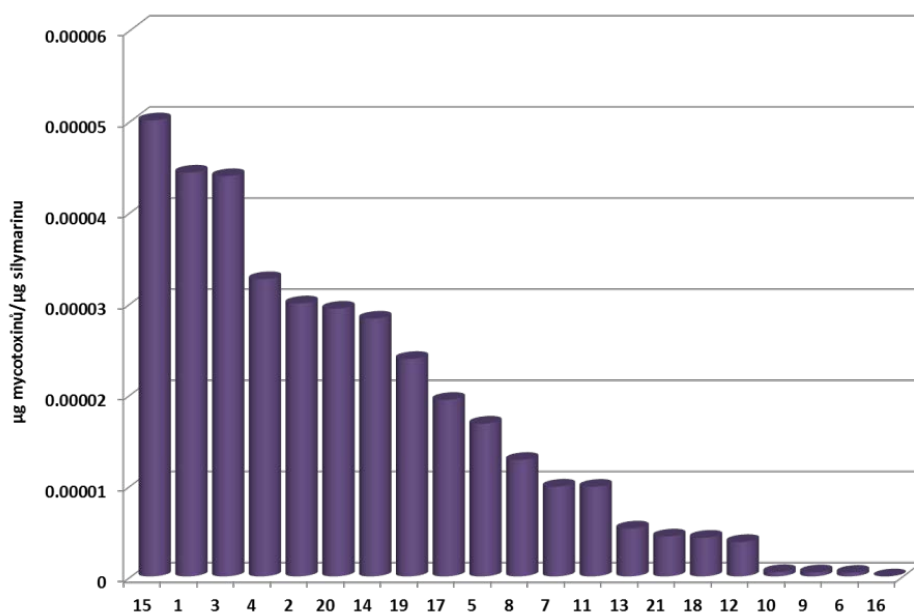
Tab. III. Procentuální hodnoty TDI (tolerovatelná denní dávka)*

Označení vzorku	Doporučená denní dávka	Fusariové mykotoxiny		
		TDI DON [%]	TDI ZEA [%]	TDI Suma HT2, T2 [%]
1	1 nebo v případě potřeby prvních 14	1,2-2,3	0,8-1,5	19,6-39,2
2	1 tobolka	0,3	0,6	2,6
3	max 2 nálev.sáčky za den	x	0,2-0,4	2,0-3,9
4	1 tableta	1,6	1,7	8,1
5	1 tableta	x	1,9	x
6	7 g nebo při intoxikaci až 14g	x	x	x
7	1 kapsle	x	0,2	1,3
8	1 nebo 2 kapsle	0,3-0,7	0,5-1,0	3,5-7,0
9	15 kapek	x	x	x
10	1 čajová lžička 1 až 3x denně	x	x	x
11	1 tobolka	x	2,4	1,7
12	1 tableta	x	x	2,0
13	1 tobolka	x	x	3,7
14	1 kapsle	x	0,4	6,1
15	1 tobolka 1 až 2x denně, max 10 tob	0,7-7,0	0,5-5,3	5,2-52
16	3 kapsle	x	x	x
17	1 až 2 tobolky	0,3-0,5	0,2-0,3	4,3-8,6
18	1 polévková lžice, max 2x/den	x	x	22,3-44,6
19	1 tableta	0,5	0,4	5,5
20	1 tableta	0,2	0,1	4,6
21	1 tableta	0,3	0,4	x

*Hodnoty jsou kalkulovány pro 70 kg osobu



Obr. 1. Obsah mykotoxinů v potravinovém doplňku na bázi Ostropestřce mariánského, koncentrace uvedena v µg/kg



Obr. 2. Obsah mykotoxinů přepočítaný na jednotku silymarinu v potravinovém doplňku, koncentrace uvedena v µg/µg silymarinu

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.21/2012) a z projektu LH11059

LITERATURA

1. Mavungo J.D.D. et al., 2009: LC-MS/MS multi-analyte method for mycotoxin determination in food supplements, Food Additives and Contaminants, 26, 6, 885-895

R 18**SPOTŘEBA KONZERVAČNÍCH LÁTEK A SLADIDEL V ČESKÉ REPUBLICE**Vrkoslavová J.¹, Winklerová D.¹¹⁾ Centrum toxikologie a zdravotní bezpečnosti, Oddělení pro bezpečnost speciálních druhů potravin a mikrobiologii PBU, SZÚ Praha, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10**Úvod**

Potravinářské přídatné látky (potravinářská aditiva, aditiva) jsou definovány jako sloučeniny nebo jejich směsi, které se k potravíně záměrně přidávají při výrobě, zpracování, skladování nebo balení za účelem zvýšení její kvality. Mohou být však i přirozenou součástí potraviny, např. konzervant kyselina benzoová je obsažena v brusinkách, barviva anthokyaniny dávají barvu mnoha květům rostlin a plodům ovoce a zeleniny, zahušťovadlo agar je produktem mořských řas nebo v řadě druhů ovoce a zeleniny je přítomen antioxidant kyselina askorbová [1]. Aditiva se používají již řadu let. Jejich druh a množství při výrobě potravin jsou regulovány legislativními předpisy. V současné době se používání aditiv v České republice řídí platnými legislativními předpisy EU. K nejvýznamnějším patří Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č.1333/2008 ze dne 16. prosince 2008 o potravinářských přídatných látkách a jeho úpravy z konce roku 2011 - Nařízení Komise (EU) č. 1129/2011, Nařízení Komise (EU) č. 1130/2011 a Nařízení Komise (EU) č. 1131/2011.

Významnou skupinu aditiv představují látky konzervační (konzervanty), které chrání potraviny proti růstu a činnosti nežádoucích mikroorganismů. Tyto mikroorganismy způsobují kažení potravin (např. změnu chuti, vůně, konzistence), patogenní mikroorganismy vyvolávají onemocnění člověka (např. průjemová, střevní, hnisavá onemocnění) a toxinogenní mikroorganismy produkují nebezpečné toxiny (např. aflatoxiny, stafylokokové enterotoxiny nebo botulotoxiny). K nejběžněji používaným konzervantům patří kyselina sorbová a její soli (E 200, E 202, E 203), kyselina benzoová a její soli (E 210 – E 215, E 218, E 219), oxid siřičitý (E 220), soli kyseliny siřičité (E 221 - E 224, E 226 – E 228), dusitan (E 249, E 250), dusičnany (E 251, E 252), kyselina octová a její soli (E 260 – E 263) a kyselina propionová a její soli (E 281 – E 283) [1, 2].

V dnešní moderní době je poměrně vysoká poptávka po potravinových výrobcích se sníženým obsahem energie a/nebo bez přidaného cukru. Do těchto výrobků se místo „cukru“ (např. fruktóza, glukóza, sacharóza) přidávají sladidla. Necukerná sladidla mají většinou vyšší sladivost než cukry, jsou mimo jiné vhodné pro osoby trpící cukrovkou (diabetiky) a nezpůsobují kazivost zubů. Mohou být přírodní (steviosid, thaumatin), ale existuje řada syntetických sladidel (acesulfam K, aspartam, sacharin). K nejdéle a nejvíce používaným sladidlům patří řadu let sacharin (E 954). K dalším běžně používaným sladidlům patří acesulfam K (E 950), aspartam (E 951), kyselina cyklamová a její soli (E 952) nebo sukralóza (E 955) [1]. V listopadu roku 2011 bylo v Evropské unii povoleno používat také steviol-glykosidy (E 960).

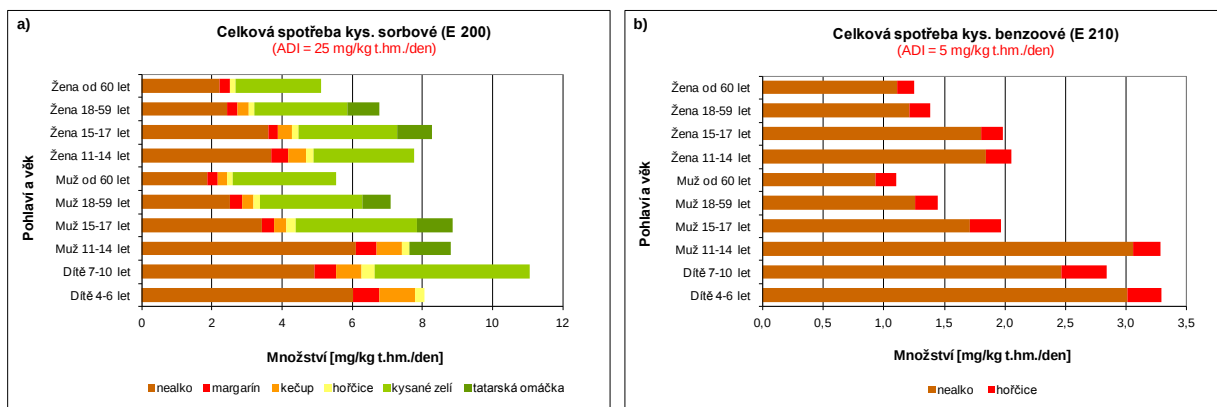
Cílem naší studie bylo odhadnout maximální množství konzervantů, které mohou lidé různých věkových kategorií spotřebovat s každodenní stravou, a sladidel, která jsou přidávána zejména do ochucených nápojů. Byly zvoleny konzervanty, které je možné používat s omezením a u kterých se předpokládá možné zdravotní riziko při překročení akceptovatelné denní dávky (ADI) - kyselina sorbová, kyselina benzoová a oxid siřičitý. Ze sladidel byly zvoleny acesulfam K, aspartam a kyselina cyklamová, které se často používají ke slazení nealkoholických nápojů. K odhadu maximální spotřeby aditiva u vybraného potravinového výrobku byla použita hodnota jeho nejvyššího povoleného množství ve vybraném výrobku uvedená v Nařízení Komise (EU) č. 1129/2011 a aritmetický průměr spotřeby výrobku uvedený v tabulkách popisujících spotřebu potravin v různých věkových skupinách populace získaných v rámci národní studie individuální spotřeby potravin (SISP04) v České republice v letech 2003-2004 [3]. Celková maximální spotřeba daného aditiva za den byla poté odhadnuta jako součet maximálních spotřeb aditiv ve výrobcích, které jej mohou obsahovat. Je nutné si uvědomit, že výrobky ve většině případů neobsahují nejvyšší povolené množství daného konzervantu nebo sladidla uvedeného v Nařízení Komise (EU) č. 1129/2011 a také, že ve studii SISP04 nebyla odlišena konzumace „light“ výrobků a výrobků

s přidavkem sladidel od výrobků slazených pouze cukrem (sacharóza, glukóza, fruktóza, glukózo-fruktózový sirup). Z těchto důvodů mohou být dále uvedené výsledky zatíženy určitou chybou – dochází k jejich nadhodnocení.

Výsledky a diskuse

Kyselina sorbová (E 200) a kyselina benzoová (E 210)

Ke konzervaci potravin mohou být mimo chemických konzervantů použity také fyzikální metody, např. konzervace teplem (pasterace, sterilace), chladem (chlazení, mražení) nebo sušením. Do takto konzervovaných potravin není třeba konzervační látky přidávat [1]. Proto k hlavním zdrojům kyseliny sorbové a kyseliny benzoové patří zejména saláty a lahůdkové pomazánky (rybí salát, pochoutkový salát, vlašský salát, ...), omáčky (tatarská omáčka, majonéza), hořčice, toustový chléb, sušené švestky a ochucené nealko nápoje mimo Coca-cola (Top-topic, Kofola, Lift, ...). Bohužel data pro výpočet obsahu těchto konzervantů v salátech a lahůdkových pomazánkách, toustovém chlebu a sušených švestkách nejsou ve studii SISP04 uvedena. Proto by výsledná hodnota na níže uvedených grafech, které zachycují celkovou maximální spotřebu kyseliny sorbové (E 200) a kyseliny benzoové (E 210), (Obr. 1) za den, dosáhla vyšší hodnoty.

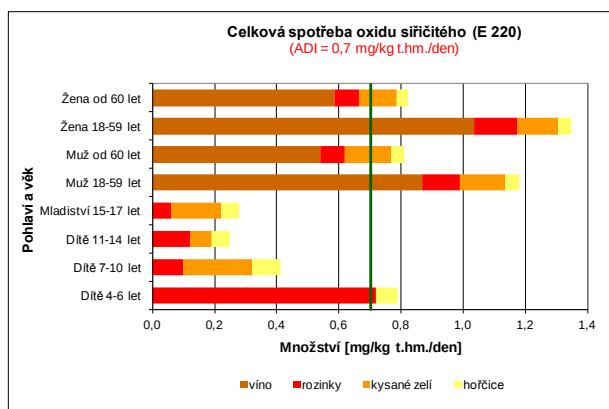


Obr. 1. a) Celková spotřeba kyseliny sorbové (E 200); b) Celková spotřeba kyseliny benzoové (E 210). Do grafu byly zaznamenány jen hodnoty, kde byla konzumace dané potravin monitorována alespoň u 5 % testovaných osob.

V případě kyseliny sorbové (E 200) hodnota maximální spotřeby nedosahuje ani 50 % hodnoty akceptovatelného denního příjmu (ADI). V případě kyseliny benzoové (E 210) není situace již tak uspokojivá, zvláště když si uvědomíme, že v grafech není zahrnut příspěvek tohoto konzervantu z významného zdroje - salátů a lahůdkových pomazánek. Možné snížení příjmu kyseliny benzoové a také sorbové tedy vychází zejména z preference neochucených nealko nápojů (voda, neslazený čaj).

Oxid siřičitý (E 220)

Oxid siřičitý (E 220), ev. siřičitany zabraňují růstu kvasinek v kyselém prostředí a chrání mošt a víno před bakteriální a plísňovou kontaminací. Reaguje s řadou látek v potravinách, čímž zabraňuje např. oxidaci vitaminu C nebo hnědnutí potravin, např. sušených meruněk [1]. Na níže uvedeném grafu (Obr. 2) je možno zaznamenat, že na jeho celkové spotřebě u osob starších 18 let se podílí zejména víno. U mladších skupin populace není brána v úvahu konzumace vína, a proto spotřeba oxidu siřičitého nedosahuje hodnoty ADI. Snížení jeho spotřeby u osob mladších 18 let lze dosáhnout řádným omýváním sušeného ovoce, na jehož obalu je uvedeno „sířeno“ nebo „obsahuje oxid siřičitý“. Kysané zelí by však z jídelníčku dětí nemělo být eliminováno vzhledem k tomu, že tato potravina je významným cenově dostupným zdrojem vitaminu C.



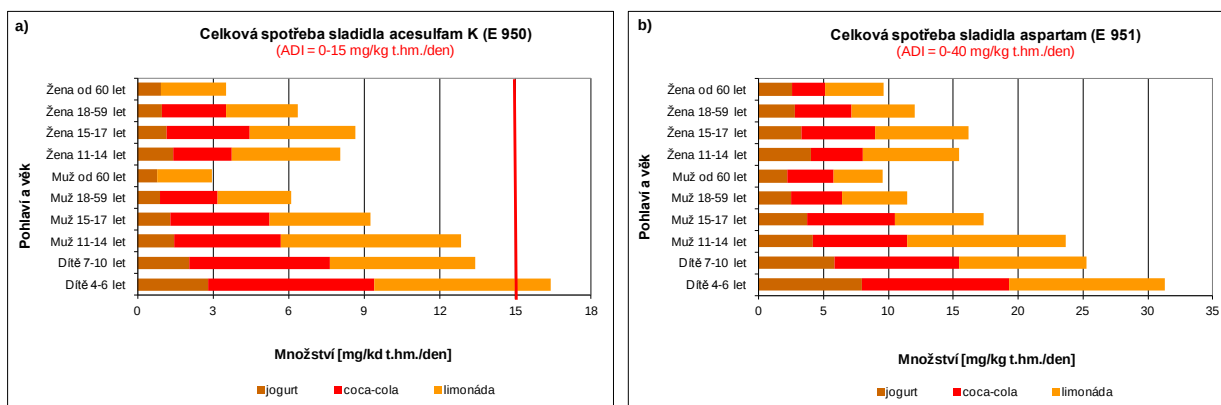
Obr. 2. Celková spotřeba oxidu siřičitého (E 220). Výsledná hodnota zahrnuje množství konzervantu pocházejícího z vína pouze u osob starších 18 let. Do grafu byly zaznamenány jen hodnoty, kde byla konzumace dané potraviny monitorována alespoň u 5 % testovaných osob.

Acesulfam K (E 950) a aspartam (E951)

Acesulfam K (draselná sůl 3,4-dihydro-6-methyl-1,2,3-oxathiazin-4-on-2,2-dioxidu) je 80-250krát sladší než sacharóza, má mírně nahořklou pachut', zvláště ve vysokých koncentracích, kterou lze redukovat vytvářením směsí s jinými sladidly. Acesulfam K je stabilní při ohřevu (rozkládá se až za teploty přesahující 235 °C), dokonce i za mírně kyselých nebo zásaditých podmínek. To umožňuje jeho použití do pekařských výrobků nebo do výrobků, kde se požaduje dlouhá udržitelnost [1, 4].

Aspartam je metylester dipeptidu L-aspartyl-L-fenylalaninu, tj. sloučeniny tvořené dvěma aminokyselinami – kyselinou asparagovou a fenylalaninem. Je 100-200krát sladší než sacharóza a nemá vedlejší příchutě. Sladící účinek má však pomalejší nástup a delší doznívání než cukr. Používá se proto ve směsích s jinými sladidly, např. s acesulfamem K nebo sacharinem. V kyselých vodných roztocích postupně dochází k jeho rozkladu na volné aminokyseliny. Aspartam je také tepelně nestabilní, rozkládá se již při teplotě kolem 40 °C. Obě reakce jsou spojeny s poklesem sladké chuti. Z tohoto důvodu je aspartam nevhodný pro osoby trpící fenylketonurií a nehodí se ke slazení všech potravin a všechny způsoby jejich zpracování [1, 4].

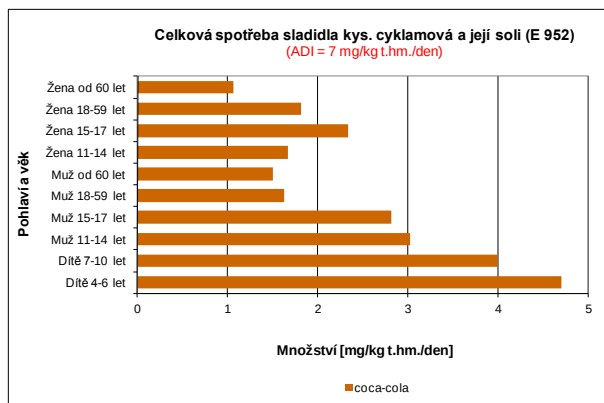
V naší studii dochází pouze v případě spotřeby acesulfamu K u dětí ve věku 4-6 let k mírnému překročení hodnoty ADI (viz. Obr. 3). Navíc jsou dosažené hodnoty spotřeby sladidel nadhodnocené (viz. Úvod).



Obr. 3. a) Celková spotřeba acesulfamu K (E 950); b) Celková spotřeba aspartamu (E 951). Do grafu byly zaznamenány jen hodnoty, kde byla konzumace dané potraviny alespoň u 5 % testovaných osob.

Kyselina cyklamová a její soli – cyklamáty (E 952)

Cyklamáty jsou soli (sodná nebo vápenatá) kyseliny cyklohexylsulfamové. Cyklamáty jsou 30-60krát sladší než sacharóza, jsou tepelně stabilní, ale vykazují vedlejší pachutě. Používají se ve směsi s jinými sladidly, většinou sacharinem [1, 4]. Z naší studie vyplývá, že k překročení hodnoty ADI konzumací nápoje Coca-cola, která je hlavním zdrojem této látky, nedochází (viz. Obr. 4). Navíc je nutno opět vzít v úvahu nadhodnocení tohoto výsledku (viz. Úvod).



Obr. 4. Celková spotřeba kys. cyklamové (E 952): Do grafu byly zaznamenány jen hodnoty, kde byla konzumace dané potraviny alespoň u 5 % testovaných osob.

Závěr

Konzervanty mají v potravinářském průmyslu velký význam. Prodlužují trvanlivost potravin zejména zabráněním růstu a činnosti řady mikroorganismů, které mohou způsobovat řadu zdravotních problémů. Sacharóza bývá v potravinách nahrazována sladidly s cílem snižovat jejich energetickou hodnotu, omezovat negativní vliv její nadměrné konzumace na lidské zdraví (kazivost zubů, obezita, kardiovaskulární onemocnění aj.) a zásobovat trh potravinami vhodnými pro diabetiky [5]. Používání konzervačních látek a sladidel při výrobě potravin je regulováno evropskou legislativou, která uvádí podmínky jejich použití a hodnoty pro maximální množství v jednotlivých druzích potravin. Evropský úřad pro bezpečnost potravin bezpečnost potravinářských aditiv stále přehodnocuje a nejvyšší povolená množství upravuje tak, aby byla zajištěna ochrana zdraví spotřebitele.

Z naší studie vyplývá, že v případě konzervačních látek kyseliny sorbové (E 200), kyseliny benzoové (E 210) a oxidu siřičitého (E 220) v naprosté většině nedochází k překročení hodnoty ADI. Jak vyplývá z grafu celkové spotřeby oxidu siřičitého, potenciální riziko by mohlo vznikat pouze v případech nadměrné konzumace vína obsahujícího oxid siřičitý, kde by hodnota ADI mohla být v některých případech překročena. V případě sladidel dochází pouze k mírnému překročení ADI u acesulfamu K u dětí ve věku 4-6 let. U všech výsledků je nutno vzít v úvahu jejich nadhodnocení (viz. Úvod).

Literatura

- 1) VELÍŠEK, J.: Chemie potravin 3. Tábor: OSSIS, 1999, vydání 1, 368 s.
- 2) ŠILHÁNKOVÁ L.: Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. Academia, 2002, vydání 3, 363 s.
- 3) RUPRICH, J. a kol.: Individuální spotřeba potravin - národní studie SISP04. CHPŘ SZÚ v Praze, 2006, dostupné na URL: <http://czvp.szu.cz/spotrebapotravin.htm> (15. 2. 2012)
- 4) Bezpečnost potravin: A-Z slovník pro spotřebitele. Dostupné na www: <http://www.agronavigator.cz/az> (14. 3. 2012)
- 5) Čopíková J., Lapčík O., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: Cukerná nesacharosová sladidla a příbuzné látky. Chem. Listy 100, 778-783 (2006).

R 19**HODNOCENÍ TĚSTOVIN S PŘÍDAVKEM MLÝNSKÝCH VÝROBKŮ Z JEČMENE**

Hrušková M., Švec I., Kallasová E.

Ústav chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha

Souhrn

Sušené těstoviny vyhovují požadavkům zdravé výživy, protože mají nízkou kalorickou hodnotu (cca 350 kcal na 100 g) i GI. Ječmen má ve srovnání s pšenicí, která je ve formě polohrubé těstářenské mouky nebo semoliny základní recepturní složkou, mnoho nutričních přínosů. Při laboratorní výrobě těstovin s ječmenem byly ověřeny varianty s celozrnnou a hladkou moukou (přídavek 10 - 90 %) a otruby (přídavek 10 - 30 %). Laboratorní těstářenská linka VŠCHT Praha (lis Korngold TR-70, předsušárna Sun P+ a sušárna Sun 450/2) simuluje klasickou výrobu sušených těstovin a výrobky jsou hodnoceny v syrovém, sušeném a vařeném stavu podle interní metodiky. Těstoviny nevaječné s přídavkem ječných mouk v rozsahu 10 - 90 % byly standardně lisovatelné s teplotou do 40°C. V sušeném stavu se přídavek nad 70 % projevil větší deformabilitou a zhoršením vzhledu. Po uvaření vykazovaly těstoviny s celozrnnou moukou 30-90 % dobrou tvarovou stabilitu. Vaznost a bobtnavost ječných těstovin souvisela s recepturou a hodnoty byly o cca 10 % nižší ve srovnání s pšeničným druhem. Barevný odstín a vůni ječných těstovin lze hodnotit jako spotřebitelsky přijatelné. Chuťový vjem těstovin s obsahem nad 50 % ječných mouk byl popsán jako senzorycky nestandardní (nahorklá příchut'). Těstoviny nevaječné s přídavkem 30 % ječných otrub se vyznačují tvarovou nehomogenitou, která se zhoršila sušením. Nižší přídavek (10 %) byl po uvaření hodnocen jako spotřebitelsky standardní. Analýzou složení vybraných druhů ječných těstovin byla potvrzena variabilita v obsahu minerálních látek, bílkovin, vlákniny potravy a resistantního škrobu v závislosti na receptuře.

Úvod

Sušené těstoviny patří mezi základní potraviny díky složení, skladovatelnosti 2 roky, jednoduché přípravě a všestrannému kulinárnímu užití. Jako poživatina jsou zdrojem polysacharidů, bílkovin, vlákniny, vitaminů, minerálních látek (draslík, hořčík a železo) a při nízkém obsahu tuku i nenasycených mastných kyselin (Kruger *et al.* 1996, Pehle a Andrich 2006, Hamr 2007). Splňují většinu požadavků zdravé výživy - mají nízký obsah sodíku, vyváženou skladbu sacharidů a nízký glykemický index. Pro inovaci sortimentu těstovin jsou přidávány netradiční cereálie a pseudocereálie v množstvích malého vlivu na původní charakter. Přidávky však dochází ke zvýšení obsahu zdraví prospěšných látek, např. bílkovin, vlákniny, minerálních látek aj. (Marconi 2001; Ugarčić-Hardi *et al.* 2007, Hrušková *et al.* 2007). Ječmen má ve srovnání s pšenicí několik nutričních přínosů. Obsah vlákniny je o cca 40 % vyšší a β -glukany endospermu a aleuronové vrstvy mají významný vliv na metabolismus glukosy a lipidů. Pozitivní vliv konzumace ječmene na lidské zdraví byl dokázán při prevenci vředových žaludečních chorob a při snižování výskytu rakovinových a kardiovaskulárních onemocnění. Bourdon *et al.* (1999) uvádí, že konzumace těstovin obohacených ječnou moukou podporuje zpětný transport cholesterolu a tím může přispívat ke snižování hladiny v krvi. Sacharidy ječmene tvoří převážně škrob (cca 50-68 %) se zastoupením amylosy a amylopektinu 1:3. Poměr ovlivňuje vaznost vody během vaření, následný tvar a celistvost těstovin. Bílkoviny se vyskytují v nižším množství, obsah kolísá od 7 do 10 % a jejich pekařská kvalita není vysoká. Albuminy a globuliny jsou bohaté na lysin a threonin (Kirkman *et al.* 1982). Naopak prolaminy, které se v ječmeni označují jako hordeiny, jsou na lysin a threonin chudé, ale bohaté na jiné aminokyseliny (kyselina glutamová a prolin). Obsah lipidů v ječmeni je cca 2-4 %, což je méně než v kukuřici a ovsu. Množství minerálních látek se pohybuje v rozmezí 1,9-2,9 %, přičemž nejvíce se vyskytuje fosfor a draslík. Nejčastěji se vyskytující formou fosforu je kyselina fytová (65-75 % z celkového obsahu fosforu), která má antinutriční účinky. Z tohoto důvodu jsou vyšlechtěny odrůdy ječmene s nízkým obsahem kyseliny fytové, současně s poklesem celkového množství fosforu v zrna (Newman a Newman, 2008).

Cílem práce bylo vyvinout a analyzovat sortiment těstovin s přídavkem mlýnských výrobků z ječmene a posoudit vliv na jakostní znaky a senzorické vlastnosti po uvaření.

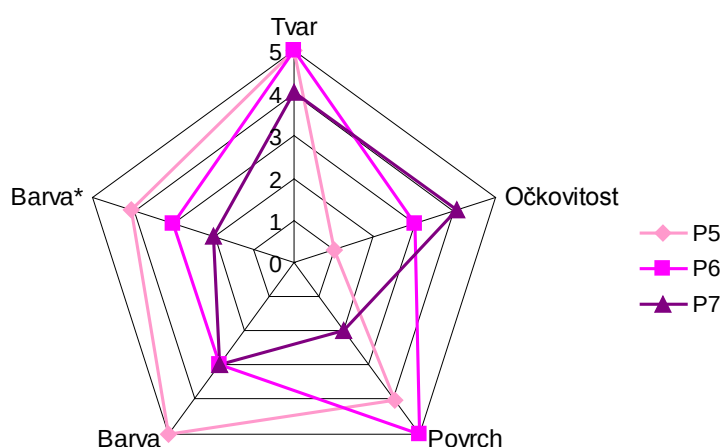
Materiál a metody

Těstoviny byly připraveny podle standardizovaného laboratorního těstářenského pokusu VŠCHT Praha za použití těstářenského lisu TR 70 (Korngold AG, Rakousko), předsušárny Sun P+ a vertikální sušárny Sun 450/2 (Mezos, ČR). Základní receptura a technologický postup jsou popsány v článku Hruškové a Vítové (2007). Byly ověřeny receptury nevaječných těstovin s přídavky hladké ječné mouky (**P6**, **P7**) a celozrnné ječné mouky **P5** v množství 10-90 % na polohrubou těstářenskou mouku. Dále byl zkoušen přídavek ječných otrub **T5** v množství 10 a 30 %. Těstoviny ve tvaru kolínek byly hodnoceny při lisování, po usušení a po uvaření podle interního postupu VŠCHT Praha. Vedle senzorického hodnocení (hedonický model pro barvu, vůni a chuť) byly stanoveny i objektivní charakteristiky vařených těstovin (vaznost, bobtnavost).

Výsledky a diskuse

Hodnocení senzorické jakosti v sušeném stavu

Pro výrobu těstovin s přídavkem ječných mouk a otrub nepřekročila teplota během lisování doporučenou hodnotu 40 °C. Maximální teploty (38,9 °C) dosahoval vzorek P7 s 30% přídavkem. Těstoviny obohacené celozrnnou moukou (P5) vykazovaly vyrovnaný tvar bez zlomů. Vzorky P6 a P7 měly v nízkých (10 %, 20 %) a vysokých (70 %, 90 %) přídavcích větší počet zlomů (hodnocení 4 body). Přídavek celozrnné ječné mouky zvýšil výskyt tmavých stipů, které ovlivnily vzhled sušeného výrobku. Těstoviny s přídavkem ječných otrub se vyznačovaly tvarovou deformabilitou již v syrovém stavu.



Obr. 1. Hodnocení ječných těstovin v sušeném stavu

Obr. 1 znázorňuje jakostní znaky těstovin s 50% přídavkem ječných mouk v sušeném stavu. Z grafu je vidět, že vzorek P5 byl negativně ovlivněn z hlediska očkovitosti a povrch byl pro vzorek P5 ve všech sledovaných recepturách kompaktní a mírně hrubý. Průkazný negativní vliv na povrch těstovin měly mouky P6 a P7 v 70% a 90% množství. Těstoviny však byly při hedonickém popisu barvy hodnoceny jako přijatelné. Přídavky otrub se zvýšil počet vizuálně patrných stipů, což bylo dáno jejich granulací. Povrch sušených těstovin byl hodnocen jako horší kvůli přítomnosti trhlinek.

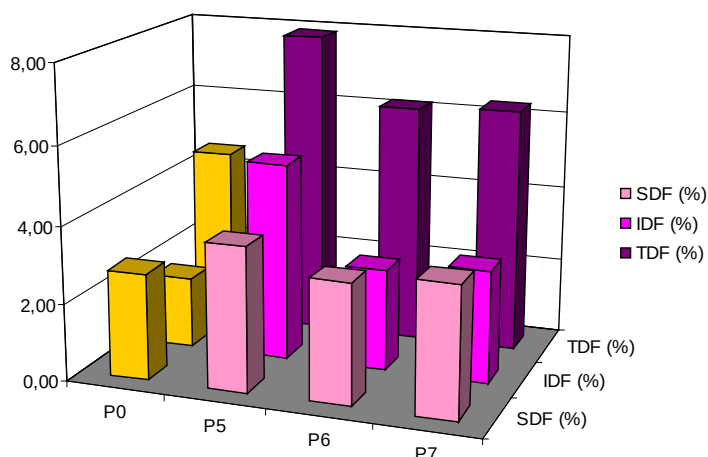
Hodnocení senzorické jakosti ve vařeném stavu

Při hodnocení těstoviny s přídavkem ječných mouk po uvaření byla průměrná vaznost vzorku P5 119,45 %, vzorky P6 a P7 měly hodnoty srovnatelné (130,49 %, 129,09 %). Bobtnavost těstovin

s přidavkem ječných mouk se podle druhu průkazně nelišila, avšak ve srovnání se standardem soubor vykazoval o 10 % nižší hodnotu. Vyšší vaznost vody souvisí s vyšší deformací těstovin po uvaření, což se potvrdilo. Nejvyšší tvarovou stabilitu si zachovaly těstoviny s přidavkem P5 v 30-90% množství. Hodnocení tvaru a celistvosti po uvaření se proti pšeničným těstovinám zlepšilo o 2 body. Barva těstovin obohacených celozrnnou moukou (P5) měla výrazně tmavší odstín než těstoviny s přidavkem hladkých mouk (P6, P7). Z hlediska hodnocení chuti se jako méně vyhovující surovina jevila mouka P7, která od přidavku 30 % způsobila nahořklou chuť. Vůně pomocí intenzitní stupnice byla v celém souboru popsána jako typická (po surovině) a plná. Méně příjemná byla zjištěna v 70% a 90% koncentraci mouky P6 a v 40-90% množství P7. Těstoviny s 30% přidavkem ječných otrub si zachovaly "hrubý" charakter i po uvaření stejně jak uvádí laboratorní pokusy Sinesio *et al.* (2008). Barva těstovin po uvaření byla ovlivněna použitými surovinami, které způsobovaly nerovnoměrnost odstínu. Se zvyšujícím se množstvím otrub se hodnoty vaznosti snižují. Těstoviny také vykazovaly, bez ohledu na množství přidané složky, hořkou příchut'. Vůně těstovin s 30 % ječných otrub byla nepříjemná a vzorek označen za senzoricky nepřijatelný.

Stanovení nutričních složek ječných těstovin

Ze souboru ječných těstovin byly pro optimální recepturu (50% množství, přidavek 1 % CMC) stanoveny analytické znaky - vlhkost, obsah bílkovin, popela, stravitelného (SS) a rezistentního (RS) škrobu a vlákniny potravy. Pro srovnání byl analyzován vzorek pšeničných těstovin s přidavkem 1 % CMC (P0₁). Obsah bílkovin byl po přípravě zkoušených vzorků mletím stanoven pomocí Kjeldahlovy metody a nejnižší hodnotu vykazují těstoviny s přidavkem hladké ječné mouky P6 (9,19 %). Obsah popela v ječných těstovinách byl zjištěn v rozsahu 1,14 - 1,29 %, kde vyšší množství odpovídá přidavku celozrnné mouky. Téměř 3x více minerálních látek obsahovaly těstoviny s 30 % ječných otrub (4,08 %). Obsah stravitelného škrobu byl ve srovnání s pšeničným druhem nižší (69,01 proti 75,20 %). Naopak rezistentního škrobu bylo stanoveno o cca 20 % více.



Obr. 2. Obsah vlákniny potravy v ječných těstovinách

Obsah vlákniny (IDF, SDF, TDF) (**Obr. 2**) byl ve srovnání s pšeničnými těstovinami vyšší o cca 50 %. Vyšší podíl logicky odpovídá fortifikaci celozrnnou ječnou moukou. Pro těstoviny s 30 % ječných otrub byly zjištěny nejvyšší množství IDF a TDF. Ve srovnání s těstovinami s ječnými moukami vykazují těstoviny s přidavkem otrub podle obsahu vlákniny vyšší nutriční přínos. Pouze druh s přidavkem 10 % byl však po uvaření hodnocen jako spotřebitelsky přijatelný. Stanovený obsah TDF vlákniny odpovídá hodnotám stanoveným Knuckles *et al.* (1997) v těstovinách se 20% a 40% zastoupením ječmene (5,4-10,4 g).

Závěr

V souboru těstovin obohacených mlýnskými výrobky z ječmene byly ve většině sledovaných znaků nejlépe hodnoceny druhy s 50% přídavkem mouky nebo 10 % otrub. Přídavek celozrnné mouky má pozitivní vliv na tvar a celistvost těstovin po uvaření. Z hladkých druhů mouky se jako lepší jevil komerční druh (P7). Očkovitost není v případě speciálních druhů těstovin vnímána v dnešní době negativně. V rámci zdravé výživy jsou spotřebitelé schopni akceptovat rozdílný vzhled těstovin, který značí nutriční přínos výrobku, avšak za předpokladu přiměřeného tvaru a chuťového vjemu po uvaření.

Literatura

- Bourdon I., Yokoyama W., Davis P., Hudson C.A., Backus R., Richter D., Knuckles B.E., Schneeman B.O. (1999): Postprandial lipid, glucose, insulin, and cholecystokinin responses in men fed barley pasta enriched with beta-glucan. *American Journal of Clinical Nutrition*, **69(1)**: 55-63.
- Hamr K. (2007): Těstoviny dnes a zítra. Ročenka pekaře a cukráře 2007: 100-108.
- Hrušková M., Vítová M., Švec I. (2007): Těstoviny s přídavkem netradičních plodin. *Mlynářské noviny XVIII* (4): 7-11.
- Hrušková M., Kallasová E., Sekerová H., Švec I., Leitnerová D. (2011): Spotřebitelsky atraktivní druhy těstovin, *Výživa a potraviny* 1,2-6.
- Kirkman M.A., Shewry P.R., Mißlin B.J. (1982): The effect of nitrogen nutrition on the lysine content and protein composition of barley seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **33**: 115-127.
- Knuckles B.E., Hudson C.A., Chiu M.M., Sayre R.N. (1997): Effect of beta-glucan barley fractions in high-fiber bread and pasta. *Cereal Foods World*, **42(2)**: 94-99.
- Kruger J.E., Matsuo R.B., Dick J.W. (1996): Pasta and noodle technology. AACC, Inc. St. Paul, USA.
- Marconi E., Carcea M. (2001): Pasta from non-traditional raw material. *Cereal Food World* **46**: 522-530.
- Newman R.K., Newman C.W. (2008): Barley for food and health: science, technology and products. John Wiley and Sons, Inc. Hoboken, New Jersey, USA.
- Pehle T., Andrich B. (2006): Lexikon těstovin. Dobřejovice, Rebo Production CZ. str. 19-66.
- Sinesio F., Paoletti F., D'Egidio M.G., Moneta E., Nardo N., Peparaio M., Comendador F.J. (2008): Flavor and texture as critical sensory parameters of consumer acceptance of barley pasta. *Cereal Foods World*, **53(4)**: 206-213.
- Ugarčić-Hardi Ž., Jukič M., Kočeva-Komlenić D., Sabo M., Hardi J. (2007): Quality parameters of noodles made with various supplements. *Czech Journal of Food Science* 25(3): 151-157.

Práce byla vypracována v rámci projektu MŠMT 60 46 13 7305 a NAZV 321 51 15 00.

R 20**STANOVENÍ RETENČNÍ KAPACITY VYBRANÝCH DRUHŮ KOMPOZITNÍ MOUKY**

Švec I., Hrušková M., Hofmanová T.

Ústav chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha

Souhrn

Retenční kapacita (RK) je moderní metoda predikce pekařské kvality pšeničné a kompozitních (směsných) mouk, založená na schopnosti složek mouky vázat vodu a roztoky sacharózy, uhličitanu sodného a kyseliny mléčné. Postupně se tak stanoví celková kvalita mouky a odhadne obsah a stav pentozanů, poškozeného škrobu a bílkovin. Kompozitní mouky byly vytvořeny z komerčních mouk pšeničné hladké „M“ (sklizeň 2009) a 10-50 % celozrnných pšeničné, žitné, ječné, ovesné a kukuřičné. Hodnocení kvality zahrnovalo jak standardně sledované technologické znaky (Zelenyho test dle ČSN ISO 5529, „ZT“; číslo poklesu dle ČSN ISO 3093, „ČP“), tak RK s 5g navázkou podle AACC 56-11 při užití odstředivky Eppendorf 5702. Přidávky celozrnných mouk se projeví nižší kvalitou bílkovin (pokles hodnot ZT), a to až o 70 % v případě kompozitů s kukuřičnou moukou. Naopak až třetinový nárůst byl zaznamenán pro stejnou řadu kompozitních mouk v parametru ČP (pro M 396 s, pro 50% kompozit s kukuřičnou 527 s). Změna RK profilů proti standardu M (RK vody 70,6 %, sacharózy 116,5 %, uhličitanu 89,9% a kyseliny mléčné 136,7 %) byla zjištěna největší v řadě s žitnou celozrnnou. Pro srovnání, 50% přídavek celozrnné pšeničné, resp. ječné mouky významně ovlivnil jen RK kyseliny mléčné. Korelační analýza prokázala významné vztahy jak mezi jednotlivými RK (např. mezi RK vody a uhličitanu 0,960; $p < 0,01$), tak mezi RK a analytickými znaky (mezi RK kyseliny mléčné a ČP -0,663 resp. ZT 0,926; $p < 0,01$).

Úvod

Cíl komplexně analyticky posoudit pekařskou kvalitu hlavních složek pšeničné mouky je řešen od počátků cereální chemie. Pro komponenty jako bílkoviny, škrob společně s monosacharidy a neškrobové polysacharidy (pentozany) byly vyvinuty jak jednotlivé metody (např. SDS test nebo enzymatická stanovení), tak komplexní postup retenční kapacity (RK, metoda AACC 56-11). Pomocí destilované vody a roztoků sacharózy (50% w/w), uhličitanu sodného (5% w/w) a kyseliny mléčné (5% w/w) jsou hodnoceny pekařská kvalita mouky, resp. obsah a fyzikálně-chemický stav pentozanů, poškozeného škrobu a bílkovin (Gaines 2000, Kweon et al. 2011).

Metoda RK našla uplatnění při šlechtění odrůd (Guttieri et al. 2004) a hodnocení jak kvality pšenice (Pasha et al. 2009), tak triticales (křížence pšenice a žita; Roccia et al. 2006; Olette et al. 2010) nebo žita (Olette et al. 2010). Tato práce rozšiřuje možnosti fortifikace pšeničné mouky o přídávky celozrnných mouk z tuzemských obilovin (pšenice, žito, ječmen, oves, kukuřice) v množství 10-50%, kdy pro hodnocení jednotlivých složek kompozitní mouky byla užitá metoda RK.

Materiál a metody

Pšeničná mouka světlá ze sklizně 2009 tvoří základ pro přípravu kompozitní mouky obsahující 10-50 % celozrnné mouky pšeničné, žitné, ječné, ovesné a kukuřičné z komerční výroby (mlýny Křesín, Horažďovice a Mrzkovice, vložkárna Vřesce). Hodnocení kvality zahrnuje standardně sledované technologické znaky – Zelenyho test („ZT“; ČSN ISO 5529) a číslo poklesu („ČP“; ČSN ISO 3093). Retenční kapacita byla zjišťována při 5g navázce podle AACC 56-11 při použití odstředivky Centrifuge 5702 (Eppendorf, Germany). Retenční kapacity zjištěné pomocí vody a roztoků sacharózy, uhličitanu sodného a kyseliny mléčné jsou dále uváděny jako RKV, RKS, RKU a RKM.

Závislosti mezi jednotlivými RK a jejich vztahy ke standardním znakům kvality kompozitní mouky jsou posuzovány korelační analýzou.

Zelenyho test a číslo poklesu kompozitní mouky

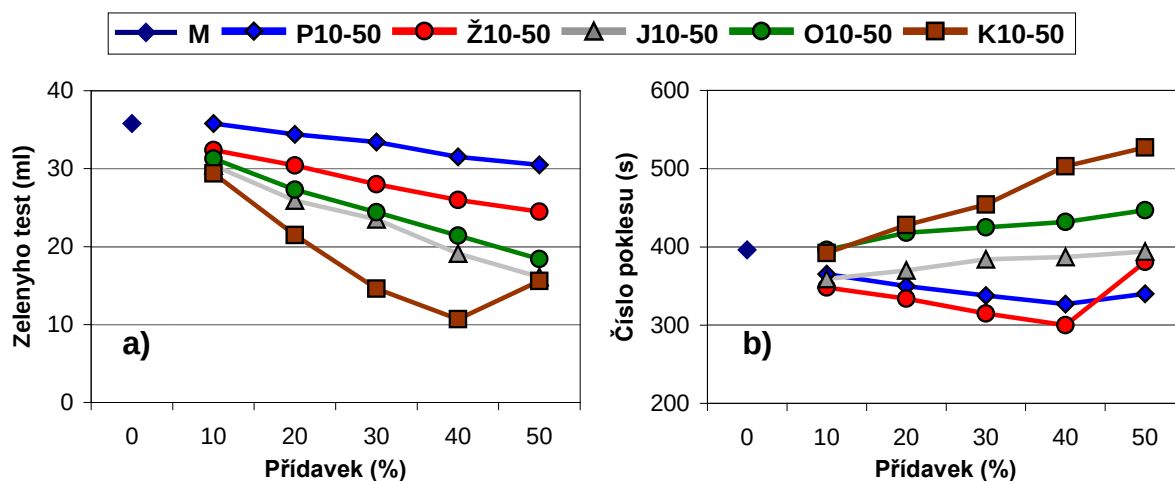
Základ pro přípravu kompozitních vzorků tvoří mouka pšeničná hladká světlá standardní pekařské kvality (popel 0,59 %). Vyznačuje se vyšším obsahem bílkovin (12,0 %) s průměrnou kvalitou (ZT 36 ml) a vysokým ČP (396 s). Technologické vlastnosti kompozitní mouky s přidavkem pšenice, žita, ječmene, ovsa a kukuřice ve formě celozrnné mouky závisí na jejich složení, které ovlivňuje druh a výše přidavku diferencovaně. Obsah bílkovin v případě přidavků ovsa a ječmene se výrazně nemění, ale nízký pokles (do 1 %) vlivem žitné a kukuřičné mouky je úměrný přidanému množství. Průkazné změny výsledků ZT souvisí se odlišným charakterem bílkovin přidávaných obilovin od pšeničných lepkových. Přidavkem kukuřičné, ječné a ovesné mouky na úrovni 50 % je patrné snížení na více než poloviční hodnoty, tedy pro pekařské účely lze předpokládat chování srovnatelné s pekařsky slabou moukou. Pokles Zelenyho sedimentační hodnoty vlivem celozrnné pšeničné a žitné mouky je nižší (**Obr. 1a**).

ČP kompozitní mouky s ovsem a kukuřicí se proti pšeničné mouce zvyšuje úměrně přidanému množství (**Obr. 1b**). Změny jsou průkazné již při 20% fortifikaci a 50% přidavkem je způsobeno zvýšení o 10 (ovs) až 25 % (kukuřice). Přidavek ječné a žitné celozrnné mouky hodnoty ČP mění v závislosti na koncentraci, kdy snížení bylo zjištěno do přidavku 10 % (ječmen) a do 40 % (žito). Vliv celozrnné pšeničné mouky na číslo poklesu souvisí zřejmě s mechanickým poškozením škrobu a projevuje se postupným poklesem až o 10 % při nejvyšším sledovaném množství.

Retenční kapacita kompozitní mouky

Hodnoty retenční kapacity ve vodě a standardizovaných roztocích sacharózy, uhličitane sodného a kyseliny mléčné reagují na změny složení kompozitní mouky, týkající se bílkovinné, škrobové i pentozanové složky podle druhu a množství přidané obilné komponenty. Pro vzorky s přidavky celozrnné pšeničné mouky hodnoty RKV, KS a RKU kolísají neprůkazně kolem odpovídajících charakteristik pro pšeničnou mouku světlou (**Obr. 2a**). Zředění obsahu lepkových bílkovin je patrné poklesem RKM stejně jako bylo zjištěno Zelenyho testem. Odlišnost složení obilok ječmene a ovsa se odráží v míře vlivu jejich přidavku v celozrnném šrotu k pšeničné mouce. Obecně bylo zjištěno, že RKV a RKU se vlivem rostoucího množství mírně zvyšuje, zatímco pro RKS a RKM byl zjištěn průkazný pokles (**Obr. 2b**), podobně případům fortifikace pšeničnou a kukuřičnou moukou.

V případě přidavku celozrnné žitné mouky byl zjištěn nárůst hodnot RKV, RKS i RKU (pro kompozit Ž50 o 42, 23 a 51 % proti hodnotám vzorku M). Toto zjištění lze vysvětlit vyšším obsahem pentozanů v žitné než pšeničné mouce (6-11 %), jejichž hydrofilita může ovlivnit všechny hodnoty RK (Oliete et al. 2010).



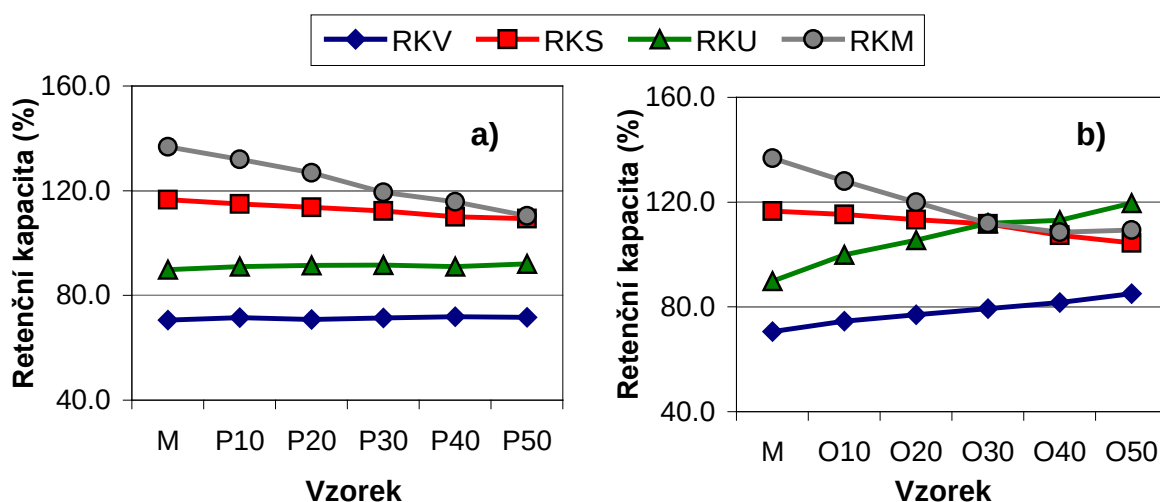
Obr. 1 Vliv přidavku celozrnných mouk na základní jakostní znaky. Mouky: M – pšeničná hladká, celozrnné: P – pšeničná, Ž – žitná, J – ječná, O – ovesná, K – kukuřičná.

Vztahy hodnot RK kompozitní mouky a ostatních sledovaných znaků

Statistickou analýzou byly zjištěny významné korelace mezi jednotlivými RK vzorků kompozitní mouky, z nichž nejsilnější ($r = 0,960$) odpovídá vztahu mezi RKV a RKM. Vysvětlení je logické, neboť jde o vyjádření vlastností mouky spojené s poškozením škrobu. Vysoká míra zastupitelnosti hodnoty ZT a RKM je potvrzena vysokým korelačním koeficientem ($r = 0,93$; $p < 0,01$) podobně jako v práci Guttieri et al (2004) ($r = 0,81$; $p < 0,001$). ČP v daném souboru koreluje s RKS a RKM ($r = -0,62$ a $-0,66$; $p < 0,01$). Průkazná nepřímá závislost odpovídá změně zastoupení lepkových bílkovin (pokles) a pentozanů (nárůst) z přidávaných celozrnných obilovin k obsahu a stavu škrobu vzorků kompozitní mouky.

Závěr

Přídavek celozrnné formy tuzemských obilovin s nelepkovým charakterem k pšeničné mouce světlé je charakterizován zeslabením struktury bílkovin kompozitní mouky popsaným Zelenyho sedimentační hodnotou. „Zředění“ lepkových bílkovin se projevuje poklesem již při 10% přídavku všech sledovaných druhů. Kukuřičná, ovesná a ječná celozrnná mouka v množství nad 20 % snižují



Obr. 2 Vliv přídavku ovesné (a) a pšeničné celozrnné mouky (b) na retenční kapacitu vody (RKV), sacharózy RKS, uhličitany (RKU) a kyseliny mléčné (RKM).

Zelenyho test pod 20 ml. Číslo poklesu se naopak vlivem kukuřičné a ovesné mouky zvyšuje již nízkým přídavkem (nad 10 %) a další nárůst je úměrný přidanému množství. Ječná mouka číslo poklesu snižuje neprůkazně v rozsahu chyby stanovení. V případě celozrnné pšeničné a žitné mouky se projevuje stav poškození škrobu těchto mlýnských výrobků poklesem úměrně přidanému množství až o 25 %.

Stanovení RK ve vodě a roztocích sacharózy, uhličitany sodného a kyseliny mléčné lze hodnotit jako jednoduchý analytický nástroj pro popis chování hlavních složek pšeničné mouky a směsí s jinými obilovinami. Bez ohledu na druh přidávané složky klesá hodnota RK v kyselině mléčné téměř úměrně přidanému množství. Nejnižší hodnoty odpovídají přídavku kukuřičné mouky, jejíž bílkoviny jsou složením nejvíce odlišné od pšeničných. Pro RK v destilované vodě byl zjištěn mírný nárůst pro kompozitní mouky s žitem a ovsem. Zvýšení bylo potvrzeno přídavkem žitné mouky o cca čtvrtinu v případě nejvyšší sledované koncentrace. RK v roztoku sacharózy, které souvisí s obsahem pentozanů, se průkazně zvyšuje pouze přídavkem žitné celozrnné mouky a to při 50% množství cca o pětinu. Množství poškozeného škrobu, které predikuje hodnota RK v roztoku uhličitany sodného, se potvrdilo průkazným zvýšením vlivem celozrnné žitné mouky. Nárůst (o 10 %) také způsobil přídavek ovesné celozrnné mouky. Překvapivě nebyly trendy, odpovídající změnám čísla poklesu, potvrzeny pro RK kompozitní mouky s celozrnnou pšeničnou. Statisticky byla zjištěna zastupitelnost hodnoty Zelenyho testu a RK v kyselině mléčné, které popisují chování bílkovinného komplexu vzorků kompozitní mouky.

Literatura

Gaines, C. S. 2000. Collaborative study of methods for solvent retention capacity profile – Method 56-11. Cereal Foods World 45: 303-306.

Kweon M., Slade L., Harry L. (2011): Solvent retention capacity testing of wheat flour: principles and value in predicting flour functionality in different wheat-based food processes and in wheat breeding. – A Review. Cereal Chem. 88(6): 537-552.

http://www.google.cz/url?sa=t&rct=j&q=www.aaccnet.org%2F...%20kweon&source=web&cd=1&ved=0C CIQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.aaccnet.org%2Fcerealchemistry%2Ffreearticle%2FCCEM-07-11-0092.pdf&ei=vQ49T_GVJan54QSt5nKCA&usg=AFQjCNEb_U5n36LnAc4XCenzlID9-ulOmg&cad=rja, 16.2.2012

Pasha I., Anjum F.M., Butt M.S. (2009): Genotypic variation of spring wheats for solvent retention capacities in relation to end-use quality. LWT – Food Sci. Technol. 42(1): 418-423.

Guttieri M.J., Becker C., Souza E.J. (2004): Application of wheat meal solvent retention capacity tests within soft wheat breeding populations. Cereal Chem. 81(2): 261-266.

Roccia P., Moiraghi M., Ribotta P.D., Pérez G.T., Rubiolo O.J., León A.E. (2006): Use of solvent retention capacity profile to predict the quality of triticale flours. Cereal Chem. 83(3): 243-249.

Oliette B., Pérez G.T., Gómez M., Ribotta P.D., Moiraghi M., León A.E. (2010): Use of wheat, triticale and rye flours in layer cake production. Journal of Food Science and Technology 45: 697-706.

Práce byla provedena v rámci VZ 604 613 73 05 a projektu NAZV 321 51 15 00.

R 21**ŽLUTÉ PIGMENTY V ODRŮDÁCH PŠENICE SETÉ**

Šulová, R., Pospíchalová, M., Balarinová, A., Kabátová, N., Paličková, A.

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Brno

ÚVOD

Význam pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) v naší republice vyplývá z jejího dominantního postavení jak ve struktuře obilnin, tak i u ostatních plodin pěstovaných na orné půdě, kde zaujímá cca 30 % plochy. Přestože se největší podíl (téměř 60 %) zkrmuje, velká část osevních ploch pšenice je využívána s cílem dosažení potravinářské (pekařské) kvality.

Odrůda patří mezi základní faktory ovlivňující technologickou jakost zrna obilovin jako suroviny pro potravinářskou výrobu. U odrůd zapsaných ve Státní odrůdové knize ČR je jakost stanovena v průběhu zkoušení užitné hodnoty a dále je upřesňována v rámci pokusů pro Seznam doporučených odrůd (zákon č. 219/2003 Sb. O oběhu osiva a sadby).

Pšenice je naší nejrozšířenější obilninou a tomu odpovídá i vysoký počet registrovaných odrůd. V mnoha znacích se jednotlivé odrůdy výrazně liší, proto je nutno respektovat jejich užitkový směr, požadavky na agrotechniku a pěstitelské podmínky.

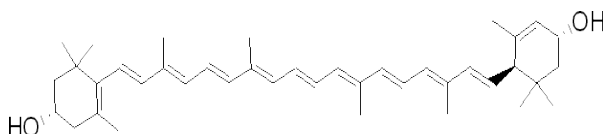
Technologické hodnocení potravinářské kvality pšenice seté se provádí na Ústředním kontrolním a zkušebním ústavu zemědělském v Brně (ÚKZÚZ) v Národní referenční laboratoři (NRL Brno). V laboratoři testování odrůd se hodnotí odrůdy pěstované v tříletých pokusech na zkušebních lokalitách ÚKZÚZ. Zrno prochází mnoha testy, při nichž se sledují mlynářské, reologické a technologické parametry. Pro určení základního užitkového směru, který se sleduje u všech registrovaných odrůd, je nejdůležitějším ukazatelem pekárenská jakost. Pro „žlutomoučné odrůdy“ pšenice ozimé a jarní bylo navíc nutné rozšířit základní rozbor o doplňkové stanovení obsahu karotenoidů.

Karotenoidy v pšenici seté

Spotřebitelé často preferují u výrobků z mouky nažloutlé zabarvení, čehož lze dosáhnout právě použitím mouky s výrazněji žlutou barvou. Původní odrůdy obilnin, z nichž byly vyšlechtěny ty současné, obsahovaly v zrnu okolo 1000 µg karotenoidů/100 g. Nyní pšenice setá obsahuje v zrnu jen asi 200 µg karotenoidů/100 g zrna. Genotypy s vyšším podílem žlutých pigmentů už téměř vymizely, protože typy bez pigmentů mají výrazně vyšší výnosy. Výrazně žluté varianty se vyskytují pouze u tetraploidní pšenice tvrdé (*Triticum turgidum durum*), která je základní součástí těstovin italského typu. Vzhledem k ceně však bývá pšenice tvrdá často i v těstovinách nahrazována nebo míchána s pšenicí setou. V současnosti se tak pro výrobu potravin používá z 90 % pšenice setá. Významnost pšenice seté i nadále poroste díky tomu, že se u tohoto genotypu podařilo vyšlechtit odrůdy s vysokým obsahem žlutých pigmentů a dobrými technologickými vlastnostmi (pro pečivo i těstoviny) i uspokojivými výnosy, a to v podmínkách, kde není pěstování pšenice tvrdé možné.

Rostlinné „žluté pigmenty“ zlepšují hlavně spotřebitelskou kvalitu odrůdy. Výrobek získá díky výraznější nažloutlé barvě atraktivnější vzhled.

Žlutá barva endospermu pšenice seté je způsobena nejméně čtyřmi různými karotenoidy: violaxanthinem, antheraxanthinem, luteinem a zeaxanthinem. Největší zastoupení tvoří lutein (obr. 1).

**Obr. 1: Strukturní vzorec luteinu**

MATERIÁLY A METODY

Pro hodnocení kvality dvou nových „žlutomoučných odrůd“ pšenice ozimé Citrus a jarní Luteus byly použity rozborů pro hodnocení pekařské kvality, doplněné o stanovení obsahu karotenoidů.

Vzorky pšenice pocházely ze sklizně 2008 a 2009 ze tří vybraných zkušebních lokalit ÚKZÚZ. Kromě sledovaných odrůd Citrus a Luteus byly pro srovnání provedeny stanovení i u elitní odrůdy Akteur. Tato odrůda se vyznačuje standardním, tedy nezvýšeným obsahem karotenoidů a na pěstitelských plochách patří mezi velmi rozšířené odrůdy pšenice ozimé.

Stanovení karotenoidů bylo provedeno podle ČSN EN 12823-2 s využitím vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) a podle ČSN EN ISO 11052 spektrofotometricky.

Získané výsledky testovaných „žlutomoučných odrůd“ byly hodnoceny Národním odrůdovým úřadem (NOÚ) ÚKZÚZ Brno podle požadavků pro jakost, dodávání a kontrolu pšenice uvedených v normách ČSN 46 1200-2 a ČSN 46 1100-2 a byly zařazeny do přesně definované jakostní kategorie.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Stanovení obsahu karotenoidů

Ze známých standardizovaných metod na stanovení žlutého pigmentu byla vybrána jak chromatografická metoda, tak metoda spektrofotometrická.

Vzorky šrotu a mouky byly analyzovány s využitím metody HPLC, kdy obsah vybraných karotenoidů se stanoví po alkalické hydrolýze vzorků hydroxidem draselným a následné extrakci hexanem metodou HPLC s detekcí ve viditelné oblasti při 450 nm. Správnost získaných výsledků byla potvrzena analýzou certifikovaného referenčního materiálu BCR 485.

Pro stanovení karotenoidů v mouce byla navíc použita i metoda spektrofotometrická, a to z toho důvodu, že tato metoda se standardně používá pro hodnocení tvrdé pšenice jako ukazatele kvality barvy mouky. Obsah žlutého pigmentu (karotenoidů) se definuje jako obsah extrahovatelných karotenoidů z endospermu a je vyjádřen v mg β -karotenu ve 100g suchého materiálu.

Byly hodnoceny vzorky ze třech zkušebních lokalit u sledovaných odrůd Citrus a Luteus a srovnávací odrůdy Akteur.

Pro zjištění případných rozdílů mezi obsahem karotenoidů v celém zrna a v endospermu zrna byly analyzovány vzorky celého zrna a vzorky mouky. Vzorky šrotu byly připraveny mletím zrna na kladívkovém šrotovníku Mill 3100. Mouka byla připravena na laboratorním mlýnu Bühler MLU 202 a následně testována i na pekařský pokus Rapid mix test (RMT). Celkem bylo analyzováno 35 vzorků.

Výsledky analýz ukazují, že vzorky šrotu zrna testovaných žlutomoučných odrůd Citrus a Luteus obsahují dvakrát více luteinu než elitní odrůda Akteur.

Vzorky mouky obsahují pro odrůdy Citrus a Luteus třikrát více karotenoidů než pro odrůdu Akteur.

Během prováděných analýz se rovněž potvrdila skutečnost uváděná v odborné literatuře: „Ačkoli je obsah pigmentů v zrna, krupici i mouce z určité odrůdy pšenice stejný, vizuálním nebo optickým měřením se mouka vlivem rozdílné reflexe světla jeví jako nejméně žlutá“. Je to způsobeno tím, že přirozené pigmenty mouky se projeví teprve v procesu pečení. Tento experiment byl proveden u nové odrůdy Citrus (vzorek 2). Mouka i pečivo (z RMT) z ní bylo porovnáno se srovnávací odrůdou Akteur (vzorek 1). Z obr. 3-5 je zřejmé, že rozdíl ve žlutém vybarvení pečiva získaného z odrůdy Citrus je mnohem významnější, než by se dalo očekávat z rozdílů žlutého zabarvení mouky obou odrůd. Zvýšený obsah karotenoidů navíc způsobil mnohonásobně výraznější žlutou barvu, než jakou lze dosáhnout například přidávkou deseti procent žloutku.



Obr.3, 4, 5: Srovnání obsahu pigmentu v mouce a v pečivu (pekařský test RMT)

Nové „žlutomoučné odrůdy“ pšenice - ozimé Citrus a jarní Luteus byly pracovištěm NOÚ ÚKZÚZ Brno podle požadavků pro jakost, dodávání a kontrolu pšenice zařazeny do jakostní kategorie A – kvalitní.

ZÁVĚR

O karotenoidech se stále více hovoří v souvislosti s jejich antioxidačními účinky jako o funkční složce potravin, jež prospívá zdraví. Pro pekárenské účely jsou v současnosti k dispozici následující vhodné „žlutomoučné odrůdy“ pšenice seté: ozimé - Caroti, Citrus, Yellow, a jarní - Luteus, Safrania.

Žlutá barva pekárenského výrobku je jedním z důležitých faktorů jeho vizuální přitažlivosti, a proto je šlechtění odrůd vysokým obsahem pigmentů a dobrými technologickými vlastnostmi velmi důležité.

Literatura

1. Průvar, J.: Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí, 1. vydání, VÚPS ve spolupráci s Komisí jakosti rostlinných produktů ČAZV, Praha, 2008
2. Zimolka, J.: Pšenice, pěstování, hodnocení a užití zrna. 1. vydání, Profi Press s.r.o, Praha 2005
3. Příhoda, J., Skřivan, P., Hrušková, M.: Cereální chemie a technologie I: cereální chemie, mlýnská technologie, technologie výroby těstovin, VŠCHT Praha 2004
4. ČSN EN 12823-2: Potraviny - Stanovení vitamínu A metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie – Část 2: Stanovení b-karotenu, ČNI, Říjen 2002
5. ČSN EN ISO 11052: Mouka a semolina z pšenice tvrdé (durum) – Stanovení obsahu žlutého barviva, ČNI, Duben 2007
6. Velíšek, J.: Karotenoidy, Chemie potravin 3, 1. vydání, OSSIS, 1999
7. Muhle + Mischfutter, 146, 2009, č. 3, s. 82-84
8. Hentschel, V., Kranl, K., Hollmann, J., Meinholf, G., Lindhauer, Bohm, V. Bitsch, R.: J. Agric. Food Chem., 2002, 50 (23), s. 6663–6668

R 22**OBSAH TUKU A SLOŽENÍ MASTNÝCH KYSELIN TUKU TRVANLIVÉHO PEČIVA**

Doležal M.(1), Doublier C.(2), Švehlová A.(1), Dostálová J.(1)

(1) Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6,

(2) Ecole Polytechnique Universitaire de Montpellier

Abstrakt

V České republice je konzumováno přibližně dvojnásobné množství nasycených mastných kyselin (SAFA) než se doporučuje. Vedle nasycených mastných kyselin mají negativní účinky na lidské zdraví v případě dlouhodobé a nadměrné konzumace i *trans*-nenasycené mastné kyseliny (TFA), které se vyskytují v dnešní době ve větším množství v různých produktech jemného a trvanlivého pečiva, náhražkách čokolády, některých polevách a v menším množství i másle a mléčném tuku. Limit tolerovaného příjmu je relativně nízký (max. 1% z celkového energetického příjmu). Proto relativně malé množství trvanlivého pečiva či náhražek čokolády může v případech pravidelné konzumace představovat trvalé překračování jejich tolerovaného příjmu. Cílem této práce bylo stanovit celkový obsah tuku a složení mastných kyselin tuku ve vybraných vzorcích trvanlivého pečiva. Obsah tuku v analyzovaném pečivu se pohyboval v rozmezí 14 – 35 %, přičemž podíl SAFA v něm tvořil 21,6 – 75,2 %. U pěti vzorků byly nalezeny vyšší hladiny TFA (3-18,5 %). V některých případech je konzumací jednoho balení plněných sušenek (22,15 % tuku, 75,2 % SAFA) naplněn denní tolerovaný příjem SAFA. Konzumací jednoho balení jiného výrobku (31,5 % tuku, 18,5 % TFA) je naplněn tolerovatelný denní limit TFA pro dospělého člověka (2,5 g TFA). Z výsledků je patrný určitý pozitivní trend ve vývoji obsahu *trans*-nenasycených mastných kyselin.

Úvod

Tato práce je součástí monitoringu složení mastných kyselin a postihuje sortiment trvanlivého pečiva běžně dostupného na českém trhu. V potravě by tuky měly tvořit 30 až 35 % energetického příjmu. Nasycených mastných kyselin by mělo být konzumováno maximálně 10 % z celkového doporučeného denního příjmu energie (přibližně 20 g). V České republice je konzumováno přibližně dvojnásobné množství nasycených mastných kyselin než se doporučuje. Základním problémem je neznalost běžného spotřebitele, jaký je obsah tuku v jednotlivých potravinách a jaký podíl tvoří nasycené mastné kyseliny. Vedle nasycených mastných kyselin mají negativní účinky na lidské zdraví v případě dlouhodobé a nadměrné konzumace i *trans* mastné kyseliny, které se stále ještě vyskytují ve větším množství v různých produktech jemného a trvanlivého pečiva, náhražkách čokolády, některých polevách nebo sušených sójových nápojích. Limit tolerovaného příjmu je relativně nízký (max. 1% z celkového energetického příjmu). Proto relativně malé množství trvanlivého pečiva či náhražek čokolády může v případech pravidelné konzumace představovat trvalé překračování jejich tolerovaného příjmu.

Experimentální část

Bylo analyzováno celkem 30 vzorků trvanlivého pečiva (oplatky, sušenky apod.) zakoupených v běžné tržní síti v r. 2012 (tabulka 1). Zastoupení mastných kyselin bylo stanoveno po jejich esterifikaci na methylestery methanolovým roztokem hydroxidu sodného. Analýzy methylesterů mastných kyselin plynovou chromatografií byly prováděny na přístroji Agilent 6890 Plus (Palo Alto, California, USA), který byl vybaven plamenovým ionizačním detektorem (FID). K dělení byla použita kolona SP 2560, 100 m x 0,25 mm, s tloušťkou filmu 0,20 μm (Supelco, USA). Obsah mastných kyselin byl vyhodnocen pomocí programu CSW 1.7. (Data Apex, Praha, CZ) jako procentuální zastoupení plochy píku daného methylesteru mastné kyseliny v chromatogramu k celkové ploše všech methylesterů.

Výsledky a diskuze

Obsah tuku ve vzorcích trvanlivého pečiva byl relativně vysoký, v rozmezí od 14 do 35 %. Nejvyšší obsah tuku byl zjištěn u vzorku č. 17 (Vesna, I.D.C. Holding a.s.). V některých výrobcích byly

zjištěny odchylky od deklarovaného obsahu tuku. Složení skupin mastných kyselin je shrnuto v tabulce 2. Nasycené mastné kyseliny (SAFA) představovaly u většiny vzorků převažující skupinu mastných kyselin. Obsah SAFA se pohyboval v rozmezí 21,6 – 75,2 %. Nejvyšší obsahy byly zjištěny u vzorků č. 7 a č. 24 (Doppelkekse, Clever; Fajn Slané, Distributor: Intersnack a.s., ČR), u nichž byly SAFA v množství přesahujícím 72 %. Doporučený denní příjem nasycených mastných kyselin by byl naplněn konzumací 120 g plněných sušenek Doppelkekse s obsahem tuku 22,15 % a obsahem SAFA 75, 2 %.

Obsah monoenoových mastných kyselin (MUFA) byl překvapivě vysoký, v rozmezí od 19,3 % do 65,4 %. Nejnižší obsah byl zjištěn u výrobku č. 23 (Fajn slané, Kraft Foods), nejvyšší obsah pak u výrobku č. 22 (Tuc original, Opavia).

Tabulka 1 Charakteristika výrobků

	Označení výrobku	Název a charakteristika výrobku
1	Mila 50 g	Oplatky polomáčené v kakaové polevě s mléčnou krémovou náplní (70 %)
2	Tatranky 33 g	Obvodově máčené oplatky s lískooříškovou náplní (64 %)
3	Siesta hořká 36 g	Oplatky (19 %) s kakaovou náplní (48 %) máčené v hořké čokoládě (32 %)
4	Turistky 35 g	Oplatka s oříškovou náplní bočně máčená polevou kakaovou
5	Delissa 33 g	Oplatka s lískooříškovou náplní 67 % máčená v mléčné čokoládě
6	Oplatka s oříškovou příchutí Albert Quality	Oplatka s náplní 40 g
7	Clever Doppelkekse 500 g	Plněné sušenky s kakaovou náplní (38 %)
8	DISKO 179 g	Plněné kakaové sušenky s čokoládovou náplní (36 %)
9	ZLATÉ oplatky 146 g	Oplatky s čokoládovou náplní (71 %)
10	Florenta 112 g	Oplatky s čokoládovou náplní (71 %)
11	Kakaové řezy 50 g	Oplatky s kakaovou krémovou náplní (78 %)
12	Clever Kakaové oplatky 300 g	Oplatky s kakaovým krémem
13	Tradiční lázeňské trojhránky 50 g	Oplatky s čokoládovou náplní (80 %)
14	Horalky arašídové	Oplatka s arašídovou náplní (69 %) polomáčená hořkou polevou (7 %)
15	Horalky SEDITA 50 g	Obvodově máčené oplatky v kakaové polevě s arašídovou krémovou náplní (72 %)
16	Tatranky SEDITA 30 g	Oplatky s lískooříškovou krémovou náplní (58 %) máčené v mléčno-kakaové polevě
17	Vesna	Oplatky s mléčnou krémovou náplní (78 % se smetanovo – vanilkovou příchutí
18	Tatranky Opavia 47 g	Obvodově máčená oplatka hořkou polevou (7,2 %) s čokoládovou náplní (71,4 %)
19	Zlaté věnečky 150 g	Žloutkové sušenky posypané cukrem
20	ZLATÉ Esíčka 220 g	Směs sušenek se skořicí a kakaových sušenek
21	ZLATÉ Koka 180 g	Kakaové sušenky s kokosem (9,3 %)
22	Tuc original 100 g	Slané krekry
23	Fajn slané 100 g	Trvanlivé pečivo
24	Krit canapé original 125 g	Slané krekrové pečivo
25	Kakaové věnečky 150 g	Sušenky obalované v cukru
26	Manžetky 200 g	Sušenky
27	Stylové sušenky	Sušenky
28	Špaldové sušenky Natural 200 g	BIO špaldové sušenky natural
29	The original caramelised biscuits 120 g	Originální karamelové sušenky
30	Zlaté Club 140 g	Sušenky s máslovou příchutí

Tabulka 2 Obsah tuku (%) a složení mastných kyselin v % z celkových mastných kyselin tuku trvanlivého pečiva

	Označení vzorku	Obsah tuku	TFA	SAFA	MUFA	PUFA
1	Mila	34	0,6	67,1	25,6	6,7
2	Tatranky	31	0,6	62,6	28,5	8,3
3	Siesta	29	0,4	59,7	33,3	6,6
4	Turistky	32	18,5	47,8	32,0	1,7
5	Delissa	34	0,4	55,8	36,7	7,1
6	Oplatka	31	12,6	48,9	34,6	3,9
7	Doppelkekse	22	0,4	75,2	19,7	4,7
8	Disko	21	0,3	58,5	32,4	8,8
9	Zlaté oplatky	25	0,3	64,5	28,3	6,9
10	Florenta s čokoládovou náplní	26	0,2	63,7	28,6	7,5
11	Kakaové řezy	31	0,5	68,1	25,0	6,4
12	Kakaové oplatky	30	0,3	51,2	39,2	9,3
13	Kolonáda	34	0,4	72,7	21,8	5,1
14	Horalky arašidové	33	0,8	52,1	35,3	11,8
15	Horalky	33	0,5	62,7	30,0	6,8
16	Tatranky celomáčené	31	0,5	63,8	29,9	5,8
17	Vesna	35	0,7	67,5	26,0	5,8
18	Opavia tatranky čokoládové	31	0,8	59,2	31,6	8,4
19	Zlaté věnečky	19	0,2	47,3	39,1	13,4
20	Zlaté esíčka	25	0,2	50,2	38,9	10,7
21	Zlaté koka	24	0,1	60,1	30,9	8,9
22	Tuc original	22	0,4	21,6	65,3	12,7
23	Fajn slané	21	0,2	74,4	19,2	6,2
24	Krit kanapé original	21	0,5	47,0	40,7	11,8
25	Kakaové věnečky	23	4,6	46,8	38,0	10,6
26	Manžetky	21	3,1	57,6	30,8	8,5
27	Stylové sušenky	23	5,1	42,6	42,0	10,3
28	Špaldové sušenky natural	30	0,4	45,6	44,0	10,0
29	The original caramelized biscuits	18	0,3	45,7	41,0	13,0
30	Zlaté Club	14	0,3	49,9	37,9	11,9

TFA - *trans*-nenasycené mastné kyseliny; SAFA – nasycené mastné kyseliny;

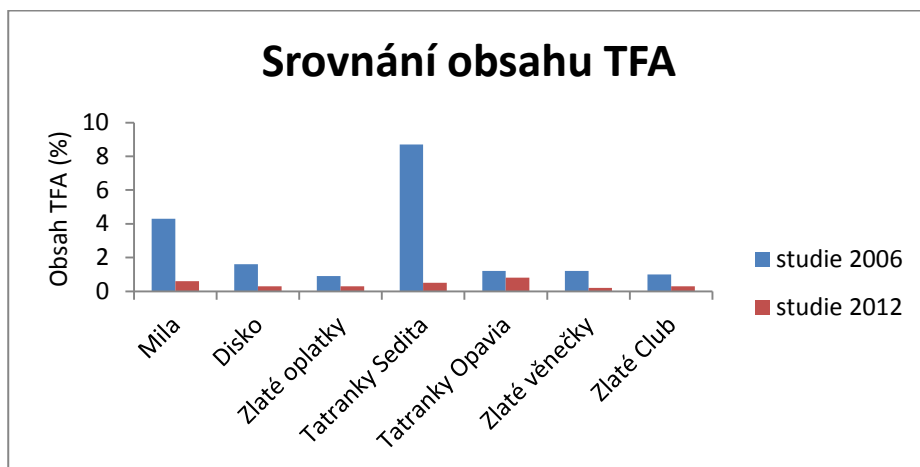
MUFA – monoenoové mastné kyseliny; PUFA – polyenoové mastné kyseliny

Obsah monoenoových mastných kyselin (MUFA) byl překvapivě vysoký, v rozmezí od 19,3 % do 65,4 %. Nejnižší obsah byl zjištěn u výrobku č. 23 (Fajn slané, Kraft Foods), nejvyšší obsah pak u výrobku č. 22 (Tuc original, Opavia).

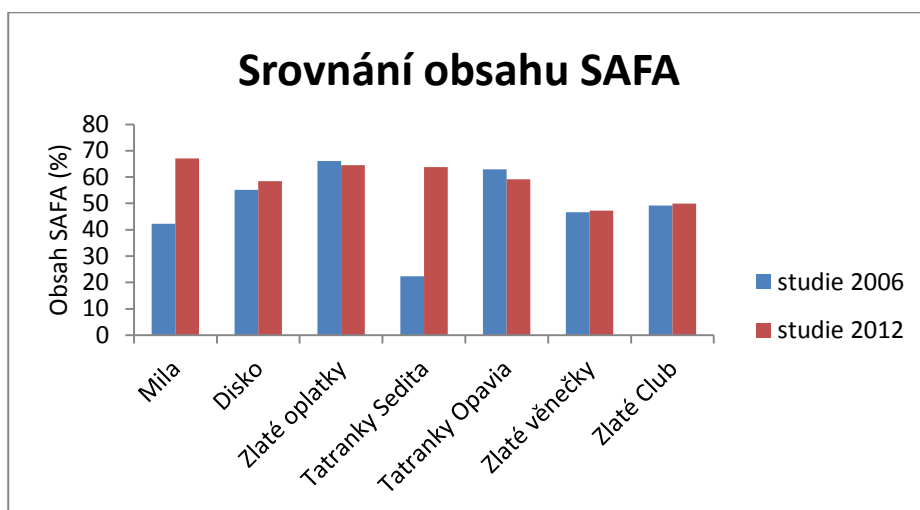
Pozitivním zjištěním je, že u 10 výrobků překročil obsah polyenoových mastných kyselin (PUFA) hranici 10 %. Nejvyšší obsah PUFA (13,5 %) obsahoval vzorek č. 19 (Zlaté věnečky, Kraft Foods). *Trans*-nenasycené mastné kyseliny (TFA) byly u většiny vzorků zastoupeny v nepatrném množství. Výjimku tvořilo 5 vzorků, u nichž byl obsah TFA vyšší než 3 %. Nejvyšší obsah byl zjištěn u vzorku č. 4 (Turistky, Albert Quality), a to 18,5 % TFA. Tolerovatelný denní limit TFA by byl vyčerpán konzumací 43 g tohoto výrobku (obsah tuku 31,5 %, obsah TFA 18,5 %).

Porovnání složení tuku trvanlivého pečiva s výsledky studie (1) z roku 2006 ukazuje, že došlo k výraznému snížení obsahu TFA (obrázek 1), zatímco obsah SAFA zůstal ve většině případů víceméně neměnný, s výjimkou vzorků Mila a Tatranky Sedita, kde zvýšení obsahu SAFA zřejmě kompenzovalo snížení TFA (obrázek 2). Nahrazování parciálně hydrogenovaných tuků s podílem

TFA za plně ztužené tuky nebo tuky tropických palm s vysokým obsahem SAFA je bohužel běžnou praxí některých výrobců a to i přesto, že SAFA jsou rizikovým faktorem rozvoje kardiovaskulárních onemocnění.



Obrázek 1 Srovnání obsahu TFA v trvanlivém pečivu z let 2006 a 2012



Obrázek 2 Srovnání obsahu SAFA v trvanlivém pečivu z let 2006 a 2012

Závěr

Z výsledků je patrný určitý pozitivní trend ve vývoji obsahu *trans*-nenasycených mastných kyselin. Výrobci ustupují od používání částečně hydrogenovaných rostlinných tuků při výrobě. Často je ovšem nahrazují tuky z tropických palm, zejména kokosovým, palmovým a palmojádrovým tukem, což se následně projeví ve vyšším zastoupení SAFA, které mohou být (stejně jako TFA) rizikovým faktorem vzniku kardiovaskulárních onemocnění.

Poděkování

Tato práce byla realizována za podpory projektu MSM6046137305.

Literatura

- [1] Folprechtová, B.: Složení mastných kyselin tuku ve vybraných potravinářských výrobcích. Diplomová práce, VŠCHT Praha, 2006.

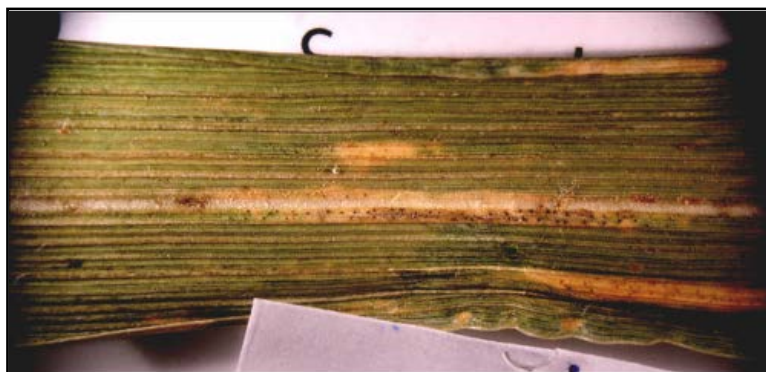
R 23**OBRAZOVÁ ANALÝZA LISTU PŠENICE NAPADENÉHO BRANIČNATKOU PŠENIČNOU**Korbářová A.¹, Věchet L.², Řezáčová V.²¹⁾ Ústav fyziky a měřicí techniky, VŠCHT Praha²⁾ Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.)**Úvod**

Obrazová analýza je využívána v čím dál tím větší míře ve vědě i v řadě průmyslových odvětví, neboť se jedná o relativně levnou, velmi rychlou a spolehlivou metodu kontroly kvality výroby. V tomto projektu jsme se soustředili na využití automatické obrazové analýzy při vyhodnocování plochy a vzdálenosti skvrn na listech pšenice způsobených plísní Braničnatkou pšeničnou. Nárůst plísní na pšenici je závažným problémem, který se snaží výzkumníci zmapovat a samozřejmě eliminovat. Obrazová analýza je nedestruktivní metoda, která umožní velmi rychle a jednoduše určit požadované výsledky. Vzhledem k charakteru sledovaného materiálu (nedostatečný kontrast světle hnědých skvrn na zelených listech) je ale přesné nastavení podmínek analýzy a její provádění obtížné. V rámci spolupráce Ústavu fyziky a měřicí techniky (VŠCHT Praha) s Výzkumným ústavem rostlinné výroby, v.v.i. (Praha - Ruzyně) vznikl speciální program, vytvořený v programovacím prostředí LabVIEW, který s použitím funkcí obrazové analýzy umožňuje stanovit plochu skvrn a jejich vzdálenost poloautomaticky, pouze s jednoduchými zásahy pracovníka laboratoře. Na základě naměřených dat potom program sám vypočítá vybrané statistické údaje, podrobné výsledky uloží do přehledného souboru a vytvoří protokol o měření.

V druhé části projektu vzniká program, který automaticky vytváří databázi variací výše zmíněné plísně, v níž jsou vybrané kolonie roztríděné na základě barvy a morfologických vlastností. Opět je využito především funkcí obrazové analýzy, vstupem jsou snímky misek s narostlými koloniemi plísní a výstupy jsou souhrnný soubor popisující vlastnosti kolonií a databáze, v níž jsou jednotlivé variace přehledně uspořádány a popsány.

Experimentální část

Prezentovaná práce se zaměřila na vytvoření systému pro automatické vyhodnocení plochy světle hnědých skvrn na listech pšenice a měření vzájemných vzdáleností tmavě hnědých ložisek (tzv. *pyknid*) plísně Braničnatka pšeničná (viz obr. 1). Prvním krokem bylo vyfotografování preparátu listu – vylišovaný usušený list připevněný na podložním sklíčku. Pro měření byla využita již léta vytvářená databáze snímků preparátů. Snímací aparatura (fotoaparát, osvětlení,...), kvalita snímků i jejich parametry (např. rozlišení, barevné korekce,...) byly bohužel nejednotné a nebylo možné je programově unifikovat resp. vylepšit. Proto byl přesně na míru vytvořen program, který prováděl obrazovou analýzu pouze poloautomaticky, s částečným zásahem pracovníka laboratoře, který musel „pomoci“ programu určit hranice skvrn a vyhledat pyknidy.



Obr. 1: List pšenice napadený Braničnatkou pšeničnou

Obrazová analýza listů je řízena programem, vytvořeným na Ústavu fyziky a měřicí techniky VŠCHT Praha v programovacím prostředí LabVIEW. Celý postup probíhá v devíti krocích uvedených přehledně v tabulce č. 1.

Tab. 1: Posloupnost kroků analýzy

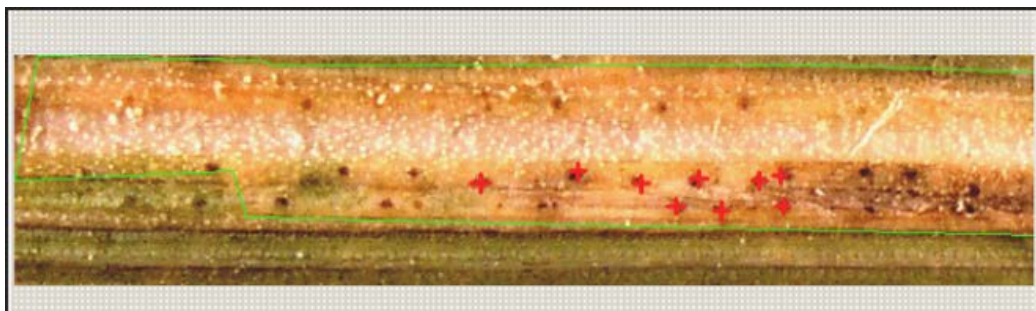
Pořadí kroku	Funkce
1	Zadání vstupních dat – identifikace listu, jméno pracovníka,...
2	Kalibrace snímků
3	Korekce kontrastu snímků
4	Zakreslení skvrn na listech - manuálně
5	Zakreslení pyknid, jejichž vzdálenost nás zajímá - manuálně
6	Měření plochy každé skvrny
7	Výpočet vzdálenosti pyknid
8	Výpočet statistických údajů – průměrné vzdálenosti,...
9	Generování protokolu o měření, uložení naměřených dat

Prvním krokem je zadání informací do tzv. dialog boxu - dialogového okna, kde uživatel zapíše údaje o analyzovaném listu, adresu uloženého obrázku, názvy souborů pro ukládání dat a parametry kalibrace snímku. Po vyplnění tohoto formuláře proběhne kalibrace snímku na základě předem vytvořených kalibračních dat. Poté se objeví okno, ve kterém uživatel potažením myši jednoduše „obkreslí“ všechny skvrny, jejichž plochu chce měřit. Tento krok není možné zautomatizovat, neboť kontrast skvrn vůči zbytku listu je příliš malý a navíc kolísavý (viz obr. 2), proto je potřeba zásah uživatele programu.



Obr. 2: Zakreslení obvodu skvrn (červené mnohoúhelníky)

Po vykreslení skvrn se postupně otevírají okna, která obsahují v detailu jednotlivé skvrny a v nich si uživatel kliknutím myši vyznačí, které pyknidy jej zajímají, kde se mají proměřit vzájemné vzdálenosti. Opět není možné pyknidy najít automaticky kvůli výše uvedeným nedostatkům v rovnoměrnosti osvětlení snímků a kontrastu.



Obr. 3: Vyznačení požadovaných pyknid (červené křížky)

Další postup již obstarává program zcela automaticky. Nejprve spočítá plochu, výšku a šířku každé skvrny, průměrnou hodnotu plochy a celkovou plochu všech skvrn na listu (vše v mm²), dále vzájemné vzdálenosti vyznačených pyknid (v mm) a jejich průměrnou hodnotu. Do samostatných souborů program uloží obrázky s výrazně očíslovanými skvrnami a pyknidami, aby bylo možné výsledkové tabulky porovnat s grafickým záznamem. Další soubor (formátu xls) obsahuje přehledně všechny naměřené výsledky spolu s hlavičkou obsahující identifikační údaje listu. Výřez z tohoto souboru ukazuje obr. 4. Posledním vytvářeným souborem je textový protokol, který shrnuje nejdůležitější výsledky a obrázky tak, aby mohly být snadno a přehledně prezentovány.

A		B	
1	datum a čas analýzy: 29.2.2012 22:03:23		
2			
3	jméno operátora: anna		
4	identifikace listu: H1,Samanta,Hadačka,2.list		
5			
135	počet skvrn:	3	
136	celkový počet pyknid:	18	
137	celková plocha skvrn [mm2]:	23,056	
138	průměrná vzdálenost pyknid [mm]:	4,586	
139	průměrná plocha skvrn [mm2]:	0,938	
140			
141		skvrna č.1	skvrna č.2
142	plocha skvrny [mm2]	4,407558	15,127946
143			
144	šířka (x) [mm]	4,38741	14,37501
145			
146	výška (y) [mm]	1,35546	1,60515
147			
148	průměrná vzdálenost pyknid [mm]	0,575182	1,267405

7	skvrna č.1		vzdálenost [mm]
8	1. pyknida	2. pyknida	
9	1	1	0
10	1	2	0,404
11	1	3	0,437
12	2	1	0,404
13	2	2	0
14	2	3	0,337
15	3	1	0,437
16	3	2	0,337
17	3	3	0

Obr. 4: Ukázka výsledných tabulek z protokolu o měření

Před vytvořením tohoto programu byla všechna tato měření prováděna manuálně na vytisknutém snímku listu (případně přímo na listu) a výsledky byly přepisovány do počítače. Číslování požadovaných pyknid bylo prováděno ručně na papír, který musel být následně archivován či neskenován do počítače. To vše se nyní děje již zcela automaticky.

Závěr

V rámci projektu jsme vytvořili měřicí systém, který je schopen jednoduše a velkou rychlostí vyhodnotit plochu skvrn na listu pšenice a změřit vzdálenost ložisek plísně, naměřená data zobrazuje do tabulky a ukládá ve formě přehledného protokolu do souboru. Výhodou tohoto

systému je automatizace celého měřicího procesu, která na rozdíl od ručního měření umožňuje automatickou archivaci naměřených dat a jejich objektivizaci.

Spolupráce s VÚRV v současné době pokračuje tvorbou programu, který bude schopen na základě funkcí obrazové analýzy rozlišit morfologické a barevné variace kolonií Braničnatky pšeničné. Tato plíseň vytváří kolonie s velkou škálou strukturních a barevných mutací, jejichž výběr je vidět na obrázku č. 5. Ústav disponuje velkou databází již hotových snímků těchto kolonií a je třeba snímky rozčlenit do tříd a vytvořit přehlednou databázi, do které bude snadné přidávat další snímky a případně v ní vyhledávat, počítat statistiky a podobně. Každá kolonie bude tedy v databázi zařazena do barevné a morfologické třídy a označena identifikačním údajem, určujícím, ze kterého listu a pyknidy byla plíseň odebrána.



Obr. 5: Barevné a morfologické variace Braničnatky pšeničné

Na základě nejen výše uvedených zkušeností s tvorbou programů „na míru“ uvítá Laboratoř obrazové analýzy Ústavu fyziky a měřicí techniky další podněty pro spolupráci s laboratořemi nebo výrobními podniky zaměřenými především na potravinářskou a chemickou problematiku. Vytvářené programy mohou pomoci usnadnit měření velikosti, počtu, barvy či tvaru zkoumaných objektů, zlepšit výstupní kontrolu ve výrobě či pouze dokumentovat výzkum (vytvářet grafické databáze, protokoly). Programy s výhodou nahrazují i komerčně dostupné softwarové prostředky, které bývají do jisté míry univerzální, tudíž ve většině případů obsahují nadbytečné funkce a jsou tedy i zbytečně nákladné. Naopak výstupy těchto programů nemusí být uspokojivé (protokoly, databáze, tabulky hodnot), případně nemají českou jazykovou mutaci, což může ve výrobním procesu způsobovat obslužnému personálu problémy. To vše mohou programy, vytvořené přesně podle přání uživatelů, zlepšit. V případě zájmu o spolupráci je možné nás kontaktovat na emailové adrese: Anna.Korbarova@vscht.cz .

Použitá literatura

RUSS J.C., The Image processing Handbook, CRC Press , Boca Raton, USA, ISBN: 0-8493-1142-X.

HLAVÁČ, V.; SEDLÁČEK, M.: Zpracování signálů a obrazu. Praha: Vydavatelství ČVUT, 2000. ISBN 80-01-02114-9

SONKA M.; HLAVÁČ V.; BOYLE R.: Image processing, Analysis, and Machine Vision, ISBN: 978-0-495-24428-7, Thomson Learning, Toronto, 2008

LabVIEW, User manual, National Instruments, USA: 2011

R 24**ELIMINÁCIA AKRYLAMIDU: ZVÝŠENIE BEZPEČNOSTI A ZACHOVANIE KVALITY CEREÁLNYCH POTRAVÍN**Ciesarová Z.¹, Kukurová K.¹, Lucie Marková^{1,2}, Jana Sádecká¹, Renáta Belková²¹) VÚP Výskumný ústav potravinársky, Priemyselná 4, 824 75 Bratislava, Slovenská republika²) VUT Vysoké učení technické Brno, Chemická fakulta, Česká republika**Abstrakt**

Akrylamid ako nežiaduci kontaminant s nepriaznivým dopadom na zdravie bol pred 10 rokmi identifikovaný v mnohých potravinách dennej spotreby pripravovaných pri vyšších teplotách zo surovín obsahujúcich prekursor jeho tvorby – asparagín a karbonylové zlúčeniny. V spracovaných cereálnych potravinách je akrylamid obvykle prítomný v malých množstvách (do 500 µg/kg), avšak ich frekventovaná spotreba spôsobuje významnú expozíciu týmto procesným kontaminantom. Snahy o elimináciu akrylamidu v potravinách viedli k návrhu niekoľkých spôsobov ako predísť jeho tvorbe v technologickom procese výroby potravín, čo sa obvykle prejaví na kvalite finálnych produktov. Aplikácia niektorých spôsobov zníženia obsahu akrylamidu (pridanie anorganických solí, resp. asparaginázy) dokumentovaná na príklade výroby chleba z chlebových zmesí, a porovnanie ich dopadu na senzorické parametre týchto cereálnych produktov predstavuje reálnu možnosť zvýšenia bezpečnosti pri súčasnom zachovaní kvality týchto výrobkov.

Kľúčové slová: akrylamid, cereálne potraviny, bezpečnosť, kvalita

Úvod

V súčasnosti, keď moderná západná spoločnosť nepociťuje nedostatok potravín, do popredia sa dostáva otázka ich kvality a bezpečnosti. Spotrebiteľ očakáva, že ponuka potravín bude kontinuálne spĺňať stále rastúce nároky na kvalitu, ktorú obyčajne vníma cez nasledovné atribúty:

- Vizúálna atraktivita
- Požadovaná senzorická charakteristika
- Nepřítomnosť kontaminantov a nežiaducich senzorických vlastností
- Vhodný nutričný profil a zdravotný benefit
- Stabilita počas skladovania
- Jednoduchá príprava

Akceptovateľnosť potravín je teda podstatne závislá na senzorických vlastnostiach, najmä v kontexte ich bezpečnosti a požadovaných nutričných vlastností.

Na chlieb ako na potravinu dennej spotreby sú nároky spotrebiteľa najmä zo senzorického hľadiska vysoké a výrobcovia vychádzajú v ústrety preferenciám spotrebiteľov. Na dosiahnutie požadovanej kvality sa pri výrobe chleba bežne používajú aditíva známe ako „zlepšujúce prípravky“, ktoré ovplyvňujú jednak kvalitu cesta, jednak vlastnosti finálneho výrobku. Ako príklad možno uviesť bežne používanú kuchynskú soľ (NaCl), ktorá má v potravine mnoho funkcií: prispieva k chuťovým vlastnostiam chleba, znižuje aktivitu vody, čím predlžuje trvanlivosť produktu, znižuje aktivitu kvasiniek (droždí), ovplyvňuje reologické vlastnosti cesta počas prípravy chleba, prispieva k vzniku farby chlebovej kôry. Na druhej strane, niektoré anorganické soli môžu ovplyvňovať v pozitívnom i negatívnom zmysle tvorbu vedľajších produktov, medzi nimi aj nežiaduceho akrylamidu, ktorý sa tvorí počas pečenia z prirodzene sa vyskytujúcich prekursorov prítomných v surovinách, ktorými sú aminokyselina asparagín a redukujúce sacharidy.

Akrylamid je známy ako zdraviu škodlivá látka a potenciálny karcinogén, ktorý vzniká počas tepelného spracovania potravín pri teplotách vyšších ako 120 °C [1, 2]. Najnovšie údaje o expozícii akrylamidom z potravín poukazujú na to, že napriek relatívne nízkej koncentrácii akrylamidu v chlebe (priemerne 70 µg/kg) táto komodita predstavuje veľmi významný zdroj akrylamidu, a to približne 15-45 % denného príjmu v závislosti od individuálnych preferencií spotrebiteľov [3, 4].

Cieľom práce bol transfer poznatkov z výskumu spôsobov eliminácie akrylamidu pomocou anorganických solí v modelových cereálnych maticiach [5] do prípravy komerčných chlebových

zmesí určených na pečenie chleba v domácich pekárničkách, pričom ako jeden z nevyhnutných faktorov aplikácie bolo zachovanie organoleptických vlastností hotového produktu. Táto práca vznikla v spolupráci so slovenským producentom zmesí na prípravu chleba v domácich pekárničkách.

Materiál a metódy

Testované anorganické soli: CaCl_2 , mliečnan vápenatý, NH_4Cl , KH_2PO_4 , NaH_2PO_4 , $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$, $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$

Základné zložky suchej zmesi na prípravu chleba: pšeničná múka, ražná múka, zemiaková múka, soľ, cukor, sušené droždie, rasca, suchý kvas, jačmenná múka, stabilizátory (guarová guma, kyselina askorbová)

Chlieb bol pripravený podľa návodu výrobcu v domácej pekárničke zn. Moulinex OW 3000.

Akrylamid bol stanovený pomocou GC/MS-NCI na plynovom chromatografe GC 7890 A s hmotnostným detektorom MSD 5975 Inert (Agilent Technologies, USA podľa publikovanej metódy [6]).

Senzorické vlastnosti chlebových bochníkov (vzhľad, povrch, farba a chrumkavosť kôrky, pórovitosť a objem striedky, ako aj chuť a vôňa boli hodnotené panelom 7 hodnotiteľov, pričom jednotlivé deskriptory boli bodované stupnicou 0-100. Výsledky boli štatisticky spracované programom Unistat.

Výsledky a diskusia

Napriek tomu, že anorganické soli v modelovom systéme mali jednoznačne pozitívny účinok na redukciu akrylamidu [5], v reálnych potravinových matriciach bolo ich pôsobenie značne diferencované. Napríklad chlorid amónny NH_4Cl , ktorý eliminoval obsah akrylamidu v modelovom systéme o viac ako 80 %, pri aplikácii v chlebe pôsobil opačne a stimuloval tvorbu akrylamidu (Tab. 1). Pravdepodobnou príčinou je to, že pre kvasinky prítomné v droždí predstavuje chlorid amónny využiteľný zdroj dusíka, ktorý využívajú namiesto aminokyseliny asparagín, ktorá sa tak stáva dostupná pre reakciu vedúcu k tvorbe akrylamidu. Zároveň prítomnosť chloridu amónneho zvyšuje aktivitu kvasiniek, čo sa odzrkadlilo na podstatnom náraste objemu bochníka.

Tab.1: Porovnanie vplyvu anorganických solí na obsah akrylamidu a organoleptické vlastnosti chleba

Vzorka chleba	Akrylamid v kôrke ($\mu\text{g}/\text{kg dw}$)	Senzorické hodnotenie (celkové skóre)	Hodnotenie - popis
Zemiaková zmes (ZZ)	151±6	91	Referenčná vzorka chleba
ZZ + CaCl_2	137±23	92	Akrylamid: 10 % pokles Organoleptické vlastnosti pozitívne: celkový vzhľad, mäkkosť a porozita striedky, hladkosť kôrky
ZZ + Ca(II) Lactate	159±1	81	Akrylamid: 5 % nárast Organoleptické vlastnosti negatívne: nepravidelný tvar, múková chuť
ZZ + NH_4Cl	295±11	88	Akrylamid: 95 % nárast Organoleptické vlastnosti pozitívne: väčší špecifický objem bochníka Organoleptické vlastnosti negatívne: slaná, nakyslastá a zvieravá (adstringentná) chuť
ZZ + KH_2PO_4	188±13	84	Akrylamid: 25 % nárast Organoleptické vlastnosti negatívne: kyslastá, adstringentná chuť Organoleptické vlastnosti pozitívne: väčší špecifický objem bochníka

ZZ + NaH_2PO_4	263±2	86	Akrylamid: 75 % nárast Organoleptické vlastnosti negatívne: Nedopečená chuť, výrazná rascová chuť, bledá farba kôrky
ZZ + $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$	160±14	84	Akrylamid: 5 % nárast Organoleptické vlastnosti negatívne: chuť po droždí, slanosť Organoleptické vlastnosti pozitívne: väčší špecifický objem bochníka
ZZ + $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$	123±21	84	Akrylamid: 20 % pokles Organoleptické vlastnosti negatívne: nedopečená chuť, slanosť Organoleptické vlastnosti pozitívne: väčší špecifický objem bochníka

Pri aplikácii ďalších anorganických solí bolo pozorované, že difosfát sodný $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ napriek pozitívnemu účinku na redukcii akrylamidu v chlebe spôsobil aj nežiaduce organoleptické vlastnosti (nedopečená a slaná chuť), hoci prispel k väčšiemu objemu bochníka. Prídavok zlepšovacieho prípravku mliečnanu vápenatého Ca(II)Lactate mierne zvýšil obsah akrylamidu zároveň s negatívnym účinkom na organoleptické vlastnosti (nepravidelný tvar bochníka, múková chuť). Ďalšie anorganické soli pyrofosfát sodný $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ a dihydrogenfosforečnan draselný KH_2PO_4 spôsobili mierne zvýšenie obsahu akrylamidu a taktiež bol zaznamenaný nepriaznivý dopad na senzorické vlastnosti (chuť po droždí, slanosť, adstringentná chuť), hoci objem bochníka viditeľne narástol. Dihydrogenfosforečnan sodný NaH_2PO_4 spôsobil podstatný nárast akrylamidu a zároveň negatívne ovplyvnil kvalitu výrobku. Na druhej strane prídanie chloridu vápenatého CaCl_2 malo pozitívny efekt jednak na redukcii tvorby akrylamidu, jednak zlepšilo organoleptické vlastnosti hotového výrobku, čo sa prejavilo na zvýšenom skóre senzorického hodnotenia (celkový vzhľad, mäkkosť, lepšia porozita striedky a hladkosť kôrky).

Záver

Mierny pokles obsahu akrylamidu bol pozorovaný pri aplikácii chloridu vápenatého a pyrofosfátu sodného, aj keď tento potláčajúci efekt bol v menšom rozsahu, ako sme očakávali. Iba jediná soľ – chlorid vápenatý – spôsobila zároveň aj zlepšenie senzorických vlastností chleba. Aplikácia tejto soli je perspektívna aj z hľadiska zlepšenia nutričných vlastností hotového výrobku. V prípade, že je použitie aditív ovplyvňujúcich senzorické vlastnosti výrobku akýmkoľvek spôsobom nemožné, osvedčeným prostriedkom na zníženie obsahu akrylamidu bez vedľajšieho vplyvu na kvalitu výrobku je použitie enzýmu asparagináza.

Podakovanie: Tento príspevok bol vytvorený realizáciou projektu „Stratégia eliminácie akrylamidu v technologickom procese výroby potravín“ (ITMS 26240220050) s podporou operačného programu VaV financovaného zo zdrojov ERDF a na základe kontraktu č. 1210/2011 – 530/MPRV SR. Podakovanie patrí firme Mäspomix, s.r.o. Zvolen za realizáciu spoločného projektu VMSP-0089-09.

Literatúra

- [1] Mottram, D.S., Wedzicha, B.L., Dodson, A.T.: Nature 419, 448 (2002).
- [2] Stadler, R.H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P.A., Robert, M. C., Riediker, S.: Nature 419, 449 (2002).
- [3] Kukurová, K., Ciesarová, Z., Marková, L., Sádecká, J.: Book of Abstracts „Women Chemists and Innovation“, Keszthely, Hungary, 27 (2010).
- [4] Ciesarová, Z.: AgroFood Industry Hi-Tech, 22, 30 (2011).
- [5] Kukurová, K., Ciesarová, Z., Bednáriková, A., Marková, L.: Czech J. Food Sci. 27, S425 (2009).
- [6] Kolek, E., Šimko, P., Šimon, P., Jorík, V., Šimúth, T.: J. Food Nutr. Res. 47, 200 (2008).

R 25**ELIMINACE AKRYLAMIDU V SUŠENKÁCH S FRUKTÓZOU APLIKACÍ ENZYMU L-ASPARAGINÁZY**

Marková L.^{1,2}, Mešková E.¹, Sindler W.³, Bednářiková A.¹, Kukurová K.¹, Murkovic M.³, Ciesarová Z.¹, Šimko P.¹

¹⁾ Výskumný ústav potravinársky, Bratislava, Slovenská republika

²⁾ Fakulta chemická, VUT Brno, Česká republika

³⁾ Technische Universität Graz, Rakousko

Abstrakt

Akrylamid je pravděpodobný karcinogen vznikající v tepelně opracovaných potravinách reakcí redukujících sacharidů s asparaginem. Hodnocení zdravotních rizik vedlo k doporučení snižovat obsah akrylamidu v potravinách v zájmu ochrany zdraví. Jednou z možností je aplikace enzymu L-asparagináza, který převádí asparagin, klíčový prekursor akrylamidu, na kyselinu asparagovou, čímž lze předejít tvorbě akrylamidu a snížit tak jeho obsah v konečném výrobku. Aplikace enzymu v různých matricích má svoje specifika a kvůli efektivnímu průběhu enzymatické reakce je potřebné optimalizovat podmínky pro každý technologický proces zvlášť při snaze zachovat požadované kvalitativní parametry finálního produktu.

Aplikace stejné koncentrace enzymu ve formě vodného roztoku přidávaného k suchým složkám byla o 58 % efektivnější než aplikace práškového enzymu přidávaného spolu s moukou. Použitím vodného roztoku bylo dosaženo lepší distribuce enzymu v tuhé fázi a jeho včasná aktivace. Tímto způsobem byl enzym aplikován ve třech koncentracích (500, 700, 900 mg/kg mouky), přičemž bylo dosaženo snížení obsahu akrylamidu v rozsahu 33 až 52 %. Zároveň byl sledován vliv přidaného enzymu na vzhled, barvu a texturní vlastnosti sušenek pomocí texturometru TA.XT.plus. Přidaný enzym neměl významný vliv na tvrdost, křehkost a výslednou barvu finálního produktu, což je jednou z nesporných výhod použitého postupu redukce akrylamidu v potravinách.

Klíčová slova: akrylamid, eliminace, sušenky, L-asparagináza

Úvod

Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (IARC) je akrylamid řazen do skupiny sloučenin pro člověka pravděpodobně karcinogenních [1]. Akrylamid vzniká v potravinách při tepelném zpracování při teplotách nad 120 °C, zejména v průběhu Maillardových reakcí. Zdrojem akrylamidu jsou především potraviny bohaté na redukující sacharidy a asparagin. Aminokyselina asparagin přímo poskytuje páteř molekuly akrylamidu [2, 3].

Hodnocení zdravotních rizik vedla k doporučení, která by měla zajistit snížení obsahu akrylamidu v potravinách v zájmu ochrany zdraví [4]. Pro dosažení eliminace akrylamidu v potravinách je nutné zvolit vhodnou metodu s ohledem na jejich složení, zpracování a technologie. Obsah akrylamidu v potravinách může být snížen odstraněním jeho prekursorů, úpravou receptury a zpracování [5]. Velmi efektivním prostředkem pro eliminaci akrylamidu v potravinách je enzym L-asparagináza [5, 6], který katalyzuje konverzi hlavního prekursoru akrylamidu L-asparaginu na kyselinu L-asparagovou a amoniak [7, 8]. Výhodou použití asparaginázy k redukci obsahu akrylamidu je její minimální vliv na chuť a barvu finálního produktu. Nevýhodou je ale její kompatibilita s podmínkami při průmyslovém zpracování. Existuje totiž řada proměnných, které ovlivňují aktivitu enzymu, jako je koncentrace enzymu, doba působení, obsah vody v reakčním prostředí, teplota a pH, při nichž reakce proběhne, proto je při aplikaci L-asparaginázy v potravinářství nutné brát tyto proměnné do úvahy [6].

Cílem této studie bylo snížit obsah akrylamidu v sušenkách pod deklarovanou indikativní hodnotu (500 µg/kg) [9] použitím komerčně dostupného enzymu L-asparagináza a nalézt optimální podmínky jeho aplikace z hlediska koncentrace a vhodné výrobní fáze pro jeho aplikaci. Zároveň byl sledován i vliv přidaného enzymu na vzhled, barvu a texturní vlastnosti sušenek.

Materiál a metody

Příprava sušenek

Sušenky byly připravovány podle standardizované receptury [10] použitím míchacího zařízení KitchenAid (KitchenAid Europa, Inc., Belgie). Složení bylo modifikováno z hlediska obsahu fruktózy pro simulaci sušenek určených pro diabetiky. Z těsta byla vykrajována kolečka o průměru 60 mm a výšce 8 mm, která byla pečena v peci Miwe Condo (Miwe Michael Wenz GmbH, Německo) při teplotě 205 °C po dobu 11 minut. Po upečení byla změřena výška a průměr sušenek pomocí digitálního posuvného měřidla.

Aplikace enzymu

Pro eliminaci akrylamidu v sušenkách připravených v laboratorních podmínkách byl použit enzym asparagináza PreventASe®W (DSM Food Specialties B.V., Nizozemsko) ve formě mikrogramulí navázaných na pšeničnou mouku a určený pro potravinářské účely. Deklarovaná aktivita enzymu asparagináza byla 2500 ASPU/g $\pm$ 5 %. Doba působení enzymu byla 30 minut při laboratorní teplotě 24,5 $\pm$ 0,5 °C.

V první části experimentu byl zjišťován vhodný způsob aplikace enzymu do těsta na sušenky při použití koncentrace enzymu 833 mg/kg mouky. Prvním navrženým způsobem bylo rozptýlení enzymu v polovičním množství vody uvedené v receptuře a jeho přidání do těsta společně s vodnou fází. Druhým způsobem byla aplikace enzymu společně s moukou, kdy homogenizace byla zajištěna pomocí mlýnku Grindomix GM200 (Retsch GmbH, Německo).

V druhé části experimentu byla porovnávána účinnost eliminace akrylamidu v sušenkách použitím enzymu asparaginázy v různých koncentracích (500, 700, 900 mg/kg mouky), které byly přidávány společně s vodnou fází při přípravě těsta. Jako kontrola byly připravovány modelové sušenky bez přídavku enzymu asparagináza.

Měření barvy a analýza texturních vlastností

Barva povrchu vzorků sušenek byla měřena kolorimetrem Color i5D, X-Rite (Grand Rapid, MI, USA) podle CIELAB barevného prostoru. Zdrojem záření bylo umělé denní světlo D65/10°.

Analýza texturních vlastností sušenek byla prováděna 90 minut po upečení pomocí analyzátoru textury TA.XT *plus* (Stable Micro Systems, Velká Británie). Použita byla souprava pro třibodový ohyb (HDP/3PB) umožňující stanovení tvrdosti a pružnosti sušenek.

Stanovení obsahu akrylamidu pomocí LC/ESI-MS-MS

Zhomogenizované vzorky byly extrahovány 0,1 % CH₃COOH. Jako vnitřní standard byl použit d₃-akrylamid. LC/MS-MS analýza byla prováděna pomocí HPLC systému 1200 série (Agilent Technologies, USA) spolu s Agilent 6410 Triple Quad detektorem vybaveným ESI iontovým zdrojem podle metodiky publikované v článku Bednáriková *et al.* [11].

Statistické zhodnocení výsledků

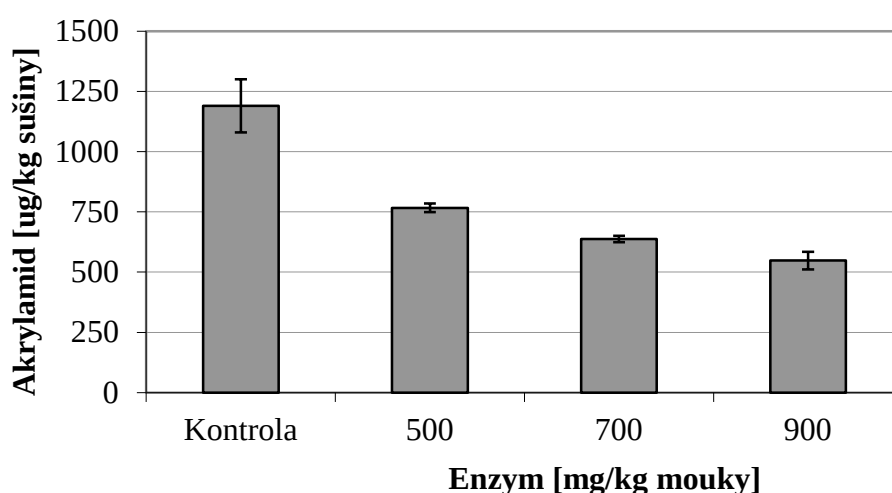
Výsledky chemických analýz jsou uvedeny jako průměr a směrodatná odchylka z nezávislých měření. Pro statistické zhodnocení výsledků byla použita jednofaktorová analýza rozptylu ANOVA. Zhodnocení výsledků bylo prováděno na hladině významnosti 0,05.

Výsledky

Pro porovnání účinnosti eliminace akrylamidu v modelových sušenkách použitím enzymu asparaginázy v různých koncentracích bylo nutné nejprve zvolit optimální způsob aplikace enzymu. Enzym byl aplikován v koncentraci 833 mg/kg, která je doporučována výrobcem pro podobný typ výrobku, a to buď rozptýlený ve vodě, nebo jako součást mouky. Z výsledků vyplynulo, že obsah akrylamidu v sušenkách byl aplikací enzymu v mouce snížen pouze o 34 % v porovnání se sušenkami bez enzymu, kdežto aplikací enzymu ve vodě došlo k poklesu obsahu akrylamidu o 57 %. Rozdíl je pravděpodobně způsoben nedostatečnou aktivací enzymu při jeho aplikaci společně

s moukou. Použití enzymu rozptýleného ve vodě zajišťuje jak jeho včasnou aktivaci, tak i jeho lepší distribuce v těstě, což usnadňuje kontakt enzymu s volným asparaginem přítomným v mouce. Jako nejvhodnější způsob aplikace enzymu byla tedy zvolena aplikace enzymu asparaginázy společně s vodným podílem při přípravě těsta sušenek.

Pro stanovení vhodné koncentrace enzymu zajišťující snížení obsahu akrylamidu v sušenkách pod hodnotu 500 $\mu\text{g/kg}$ byla navržena aplikace enzymu asparagináza ve třech různých koncentracích (500, 700 a 900 mg/kg mouky). Jako kontrola byly připravovány sušenky bez přídavku enzymu asparagináza. Z výsledků stanovení akrylamidu vyplývá, že při aplikaci 3 různých rovnoměrně se zvyšujících koncentrací enzymu asparaginázy klesá rovnoměrně obsah akrylamidu v modelových sušenkách (Obr. 1). Bohužel nebylo dosaženo požadovaného snížení obsahu akrylamidu pod hodnotu 500 $\mu\text{g/kg}$ ani při nejvyšší navržené koncentraci enzymu asparagináza (při 900 mg enzymu/kg mouky byla koncentrace akrylamidu ve konečném výrobku $548 \pm 37 \mu\text{g/kg}$), což mohlo být způsobeno omezenou mobilitou enzymu, protože obsah vody v těstě byl pouze 16,7 %, přičemž výrobce pro aplikaci daného enzymu doporučuje obsah vody minimálně 20 %.



Obr. 1: Obsah akrylamidu v sušenkách v závislosti na použité koncentraci enzymu L-asparaginázy

Kromě účinnosti eliminace akrylamidu v sušenkách použitím enzymu L-asparagináza, byly sledovány i kvalitativní parametry sušenek, tedy barva, rozměry a texturní vlastnosti. Z texturních vlastností byla sledována tvrdost a pružnost sušenek, kdy tvrdost je definovaná jako síla potřebná k dosažení dané deformace a pružnost jako míra návratu stlačené potravinu do původního stavu po odstranění zátěže [12]. Cílem porovnávání barvy a texturních vlastností sušenek bez a s přídavkem enzymu asparaginázy v různých koncentracích bylo zjistit, zda působením L-asparaginázy nedochází ke změnám kvalitativních parametrů sušenek, které jsou klíčovými faktory pro přijetí spotřebitelem. Z výsledných hodnot barvy vrchní strany sušenek a jejich rozměrů (Tab. 1) a hodnot tvrdosti a pružnosti sušenek (Tab. 2) bylo zjištěno, že odbouráním asparaginu L-asparaginázou nedochází k statisticky významným změnám výsledné barvy sušenek, jejich rozměrů a texturních vlastností a to ani při zvyšující se koncentraci enzymu (Tab. 1 a 2).

Tab. 1: Hodnoty barvy vrchní strany sušenek v systému CIELab a rozměry sušenek

Sušenky	Barva			Rozměry	
	L^*	a^*	b^*	v [mm]	d [mm]
Kontrola	$48,9 \pm 0,6$	$16,5 \pm 0,1$	$32,4 \pm 0,8$	$7,2 \pm 0,2$	$65,9 \pm 1,0$
Enzym 500 mg/kg mouky	$49,1 \pm 1,2$	$16,3 \pm 0,8$	$32,1 \pm 0,8$	$7,6 \pm 0,2$	$65,2 \pm 1,4$
Enzym 700 mg/kg mouky	$47,5 \pm 1,2$	$16,9 \pm 0,2$	$32,0 \pm 1,4$	$7,3 \pm 0,5$	$66,4 \pm 0,3$
Enzym 900 mg/kg mouky	$47,4 \pm 0,7$	$17,0 \pm 0,2$	$31,8 \pm 0,6$	$7,3 \pm 0,3$	$66,2 \pm 1,0$

Tab. 2: Hodnoty tvrdosti a pružnosti modelových sušenek

Sušenky	Tvrdost [N]	Pružnost [mm]
Kontrola	25,63 ± 5,31	0,73 ± 0,14
Enzym 500 mg/kg mouky	31,50 ± 1,25	0,90 ± 0,01
Enzym 700 mg/kg mouky	28,03 ± 7,56	0,75 ± 0,19
Enzym 900 mg/kg mouky	25,20 ± 3,55	0,62 ± 0,06

Závěr

Použití enzymu L-asparagináza je velmi účinný způsob redukce akrylamidu v sušenkách, kdy jako nejefektivnější způsob aplikace enzymu do těsta se jeví jeho rozptýlení ve vodě. Při aplikaci testovaných koncentrací enzymu L-asparagináza bylo dosaženo snížení obsahu akrylamidu blízko indikativní hodnoty 500 µg/kg. K zabezpečení snížení akrylamidu pod tuto hodnotu je nutné dále optimalizovat podmínky aplikace enzymu, případně použít enzym, který má za daných technologických podmínek vyšší enzymovou aktivitu. Pozitivní stránkou aplikace komerčně dostupného enzymu L-asparagináza pro dosažení eliminace akrylamidu v sušenkách je, že nebyl zjištěn vliv na rozměry a barvu sušenek a ani na jejich texturní vlastnosti.

Poděkování: Tento příspěvek byl vytvořený realizací projektu "Centrum excelentnosti pre kontaminujúce látky a mikroorganizmy v potravinách" (ITMS 26240120024) na základě podpory operačního programu Výzkum a vývoj financovaného z Evropského fondu regionálního rozvoje a je výsledkem mezinárodní spolupráce podporované Agenturou na podporu výzkumu a vývoje v rámci projektu SK-AT-0026-10.

Seznam použité literatury

- [1] IARC. Acrylamide. TA: IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans PG 1994; 60.
- [2] Ciesarová Z.: Chem. Listy 99, 483 (2005).
- [3] Stadler R.H., Robert F., Riediker S., Varga N., Davidek T., Devaud S., Goldmann T., Hau J., Blank I.: J. Agric. Food Chem. 52, 5550 (2004).
- [4] Knol J.J., van Loon W.A.M., Linssen J.P.H., Ruck A.L., van Boekel M.A.J.S., Voragen A.G.J.: J. Agric. Food Chem. 53, 6133 (2005).
- [5] FoodDrinkEurope (2011). *Acrylamide toolbox*. Staženo 9. května 2012 z http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/ciaa_acrylamide_toolbox09.pdf.
- [6] Hendriksen H.V., Kornbrust B.A., Østergaard P.R., Stringer M.A.: J. Agric. Food Chem. 57, 4168 (2009).
- [7] FAO JECFA Monographs 4: *Asparaginase from Aspergillus oryzae expressed in A. oryzae* (2007).
- [8] Zyzak D.V., Sanders R.A., Stojanovic M., Tallmadge D.H., Eberhart B.L., Ewald D.K., Gruber D.C., Morsch T.R., Strothers M.A., Rizzi G.P., Villagran M.D.: J. Agric. Food Chem. 51, 4782 (2003).
- [9] Doporučení komise ze dne 10.1.2011 o zkoumání množství akrylamidu v potravinách.
- [10] *Approved Methods of Analysis*, 9th Ed. Method 10-54: Baking Quality of Cookie Flour—Micro Wire-Cut Formulation. AACC International (1995).
- [11] Bednářiková A., Ciesarová Z.: Chem. Listy 106, 252 (2012).
- [12] Rosenthal A. J.: *Food Texture – Measurement and Perception*. Springer 1999.

R 26**STUDIUM VZNIKU VYBRANÝCH PROCESNÍCH KONTAMINANTŮ
Z MONOPALMITINU**

Ilko V., Doležal M., Velíšek J.

Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Souhrn

Při tepelném namáhání lipidů může docházet ke vzniku nežádoucích sloučenin, jako jsou *trans*-nenasycené mastné kyseliny, cyklické mastné kyseliny nebo polymery acylglycerolů. Vzniká také skupina lipofilních látek, ve které mají dominantní postavení mono- a diestery 3-chlorpropan-1,2-diolu (3-MCPD) s mastnými kyselinami a glycidyl estery s mastnými kyselinami. Tyto sloučeniny jsou dnes zařazovány mezi procesní kontaminanty potravin.

Práce je zaměřena na studium reakčních mechanismů vedoucích ke vzniku esterů 3-MCPD a esterů glycidolu v modelových systémech, protože znalost hlavních cest jejich vzniku a reakční kinetiky (ovlivněné teplotou, časem, koncentrací reaktantů apod.) může pomoci předpovědět koncentrace esterů 3-MCPD a glycidolu v reálných matricích (potravinách) a pomoci nalézt vhodné detoxikační procesy. V této práci byla sledována závislost rozkladu monopalmitinu na teplotě, době záhřevu a koncentraci vody a chloridů. Modelové směsi byly po reakcích analyzovány metodou plynové chromatografie s hmotnostní detekcí.

Úvod

V roce 1978 byla poprvé v potravinách, konkrétně v bílkovinových hydrolyzátech, které byly vyráběny kyselou hydrolýzou sójových bobů použitím kyseliny chlorovodíkové, popsána skupina látek známá jako chlorpropanoly (Velíšek *et al.*, 1978). V nedávné době bylo zjištěno, že v lipidech dochází též ke chloraci esterů glycerolu přítomnými chloridy za vzniku esterů chlorpropanolů. V této skupině lipofilních látek zařazovaných mezi procesní kontaminanty potravin mají dominantní postavení mono- a diestery 3-chlorpropan-1,2-diolu (3-MCPD) s mastnými kyselinami. Tyto sloučeniny byly nalezeny v lipidovém podílu různých druhů potravin, zvláště vysoké koncentrace, přesahující $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, obsahují rafinované rostlinné oleje, zejména palmový olej, ve kterých vznikají estery 3-MCPD během rafinace (Zelinková *et al.* 2006, Franke *et al.* 2009). Vzhledem k širokému použití rostlinných olejů v potravinářském průmyslu, přecházejí tyto látky také do finálních výrobků, jako je např. sušená mléčná kojenecká výživa, smažené bramborové lupínky, bramborové hranolky apod. (Zelinková *et al.* 2009, Weisshaar 2011). Krátkodobé i dlouhodobé toxikologické studie zaměřené na toxické, mutagenní a karcinogenní účinky chlorpropanodiolu 3-MCPD byly shrnuty komisí JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) v roce 2001 (Schlatter *et al.*, 2002) a vyústily ve stanovení provizorního maximálního tolerovaného denního příjmu (PMTDI) pro 3-MCPD na $2 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti (JECFA, 2002). Pro kyselé bílkovinné hydrolyzáty a sojové omáčky (při obsahu sušiny 40 %) bylo legislativně stanoveno maximální povolené množství na $20 \text{ } \mu\text{g}/\text{kg}$. Toxikologické studie esterů 3-MCPD dosud nebyly provedeny. Pro hodnocení rizika těchto kontaminantů bylo doporučeno předpokládat, že během trávení dojde k jejich úplné hydrolýze a uvolnění 3-MCPD. Objev esterově vázaného 3-chlorpropan-1,2-diolu (3-MCPD) a nověji též další skupiny procesních kontaminantů, esterů glycidolu s mastnými kyselinami, v rafinovaných jedlých olejích a dalších produktech inicioval jejich monitoring v mnoha státech Evropské unie. V současné době jsou účinné postupy pro omezení vzniku těchto látek v průběhu zpracování potravin a potravinářských surovin limitovány dostupnými znalostmi mechanismů jejich vzniku.

Experimentální část

V modelových systémech byla zkoumána tvorba kontaminantů esterů 3-MCPD a glycidylesterů z monopalmitinu. Mezi analyzované látky patřil glycidyl palmitát (P-glycidol), 3-MCPD monopalmitát (P-3-CPD), 3-MCPD dipalmitát (PP-3-CPD), tripalmitin (TAG), dipalmitin

(DAG), monopalmitin (MAG) a kyselina palmitová (FFA). Ve vlastní kinetické studii byl sledován vliv koncentrace chloridových iontů, obsahu vody, a vliv teploty a doby zahřívání. Jako inertní materiál, který simuluje potravinovou patrici byl zvolen předem vysušený silikagel, ke kterému je kvantitativně přidán monopalmitin rozpuštěný v tetrahydrofuranu a chloridové ionty (ve formě tetrabutylamonium chloridu rozpuštěný v acetonu). Po odpaření rozpouštědel proudem dusíku je přidáno požadované množství vody. Reakční ampule je zatavena a zahřívána. Po vychladnutí je ke směsi přidána první směs vnitřních standardů (3-MCPD-d5 dipalmitát, 3-MCPD-d5 monopalmitát, glycidol-d5 palmitát) a analyty jsou opakovaně extrahovány tetrahydrofuranem. Část vzorku je po zakoncetování analyzována pomocí GC/MS. Ke druhé části je po nařazení přidána druhá směs vnitřních standardů (tripalmitin-d5, 1,3-dipalmitin-d5, 1-monopalmitin-d5, palmitová kyselina-d31) a poté rovněž analyzována pomocí GC/MS.

Chemikálie a materiál

1,3-Dipalmitin (Fluka Chemie, CH), 1-monopalmitin (Aldrich, D), palmitová kyselina-d31 (Sigma Aldrich Izotec, USA), silikagel 60 (0,063-0,200 mm, Merck, D), SPE kolony (Extract Clean™ Silica 5000 mg, Grace, USA), tetrabutylamonium chlorid (Aldrich, D). 3-MCPD dipalmitin, 3-MCPD-d5 dipalmitin, 3-MCPD monopalmitin, 3-MCPD-d5 monopalmitin, glycidyl palmitin, glycidyl-d5 palmitin, tripalmitin-d5, 1,3-dipalmitin-d5, 1-monopalmitin-d5 byly syntetizovány na Ústavu technologie mléka a tuků, VŠCHT Praha. Ostatní používaná činidla a rozpouštědla byla analytické čistoty.

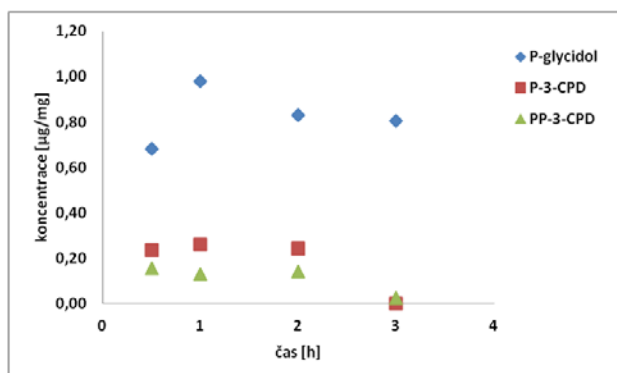
GC/MS analýza

Pro analýzy modelových reakcí byl použit plynový chromatograf Agilent 7820A (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) s kvadrupolovým hmotnostním detektorem Agilent 5975 (Network Mass Selective Detector) a kapilární kolonou DB-1HT (15 m x 250 μ m x 0,1 μ m, Agilent, J&W GC columns, Agilent Technologies, USA). Nastříkovan byl 1 μ l vzorku v režimu pulsed splitless. Počáteční teplota termostatu 140°C byla zvyšována rychlostí 10°C/min na teplotu 300°C, dále rychlostí 40°C/min na konečnou teplotu 340°C drženou po dobu 15 minut. Teplota injektoru byla 280°C. Jako mobilní fáze bylo použito helium o průtoku 1,0 ml/min.

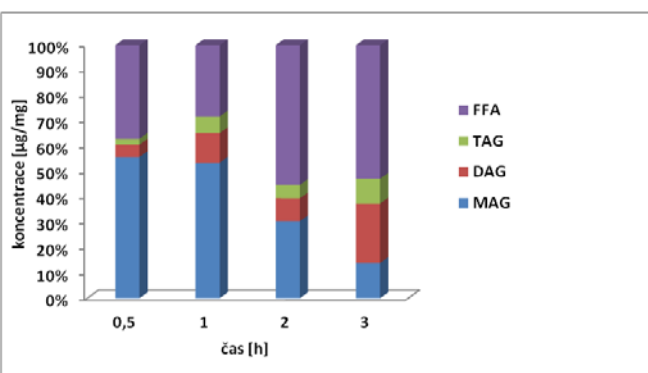
Hmotnostní detektor pracoval v SIM modu (select ion monitoring), kdy byly snímány ionty o m/z: (1 group) 239, 283, 288, 312, 317, 348, 353; (2 group – od 15 min) 239, 331, 333, 336, 338 v případě stanovení esterů 3-MCPD a esteru glycidolu s palmitovou kyselinou. A dále ionty o m/z 239, 256, 287, 299, 302, 313, 318, 551, 556 v případě stanovení palmitové kyseliny a acylglycerolů s palmitovou kyselinou.

Výsledky a diskuse

V prvním sledu byla zkoumána závislost tvorby kontaminantů na době reakce při 200 °C, obsahu chloridů 0,5 % a obsahu vody 0,5 %. Ampule byly zahřívány po dobu 0,5 h, 1 h, 2 h a 3 h. Na grafu (**Obr.2**) je vidět, že ze začátku dochází ke vzniku P-glycidolu a 3-MCPD esterů kyseliny palmitové, ale po 2 hodinách dochází k mírnému rozkladu těchto látek. Po 3. hodině dochází k celkovému rozkladu P-3-CPD, PP-3-CPD. To koresponduje s prací z roku 2004 (Doležal *et al*, 2006), kde při teplotě 200 °C docházelo k rozkladu PP-3CPD. Se vrůstajícím časem docházelo k rozkladu monopalmitinu na kyselinu palmitovou a taktéž vzniku dipalmitinu (**Obr.3**).

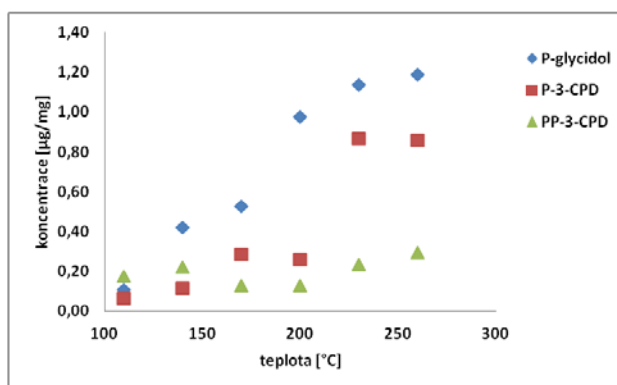


Obr. 2: Vliv doby reakce
(200 °C obsahu chloridů 0,5 % a obsahu vody 0,5 %)

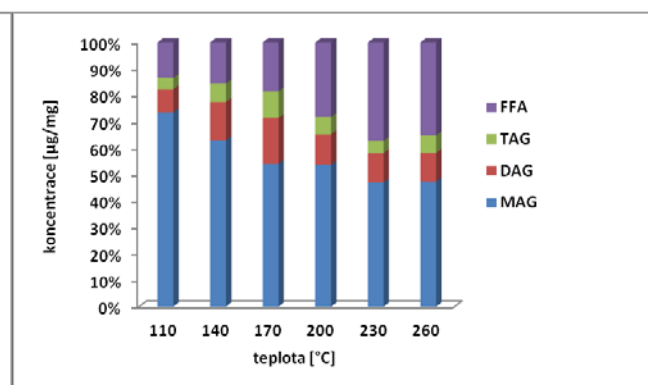


Obr. 3: Vliv doby reakce

V druhém pokusu byla pozorována závislost na teplotě. V měřeném rozsahu 140 až 260 °C měla teplota pozitivní vliv na růst obsahu esterů 3-MCPD i glycidylesteru (**Obr. 4**). Se stoupající teplotou taktéž docházelo k rozkladu monopalmitinu, přičemž majoritním produktem rozkladu byla kyselina palmitová (**Obr. 5**).

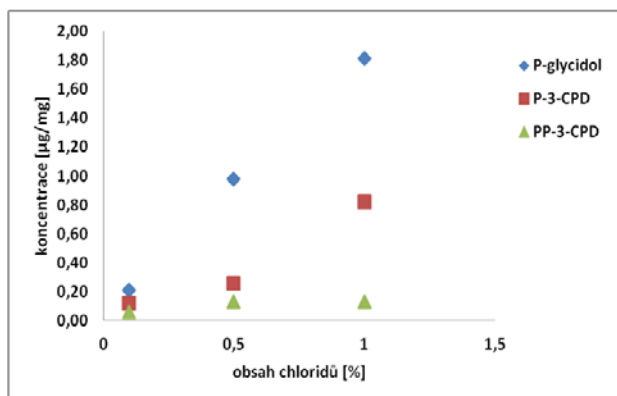


Obr. 4: Vliv teploty
(200 °C obsahu chloridů 0,5 % a obsahu vody 0,5 %)

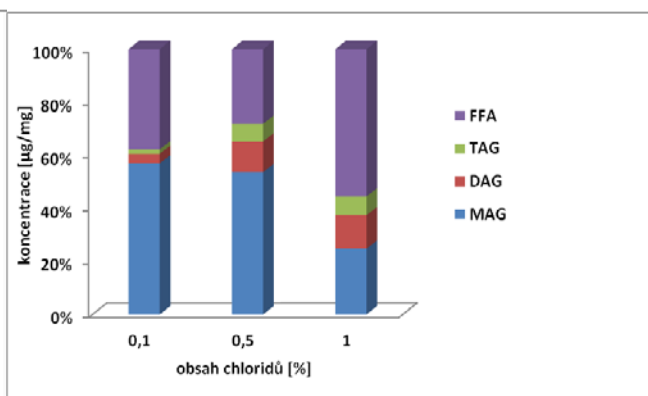


Obr. 5: Vliv teploty

Vliv chloridů v modelových pokusech byl zkoumán při 0, 0,5 a 1 % (hm.) obsahu chloridů v matrici. Obsah esterů 3-MCPD i glycidylesteru stoupal se stoupajícím obsahem chloridů. Je vidět, že obsah chloridu má výrazný vliv na vzniku těchto sloučenin. Obsah glycidyl palmitátu stoupal až k hodnotě 1,81 μg/mg (**Obr. 6**). Při analýze palmitoyl glycerolů bylo vidět, že dochází k rozkladu monopalmitinu a hlavním produktem tohoto rozkladu byla kyselina palmitová (**Obr. 7**).

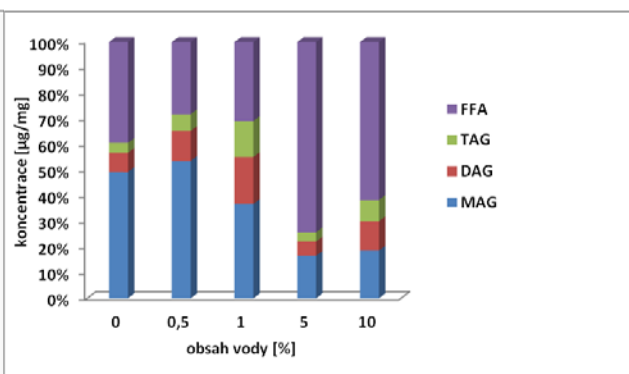
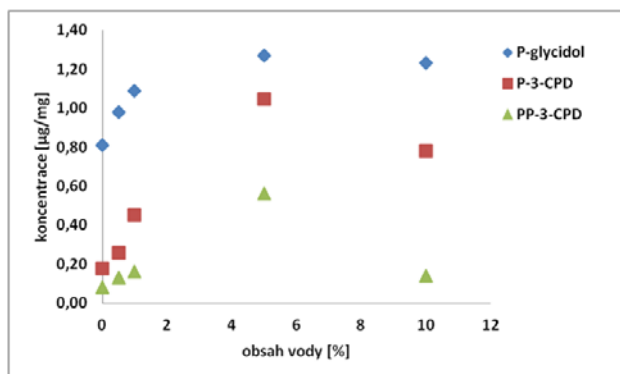


Obr. 6: Vliv obsahu chloridů
(200 °C obsahu chloridů 0,5 % a obsahu vody 0,5 %)



Obr. 7: Vliv obsahu chloridů

Poslední z připravených modelových systémů byl určen ke stanovení vlivu obsahu vody v matrici na rozklad monopalmitinu. Obsah vody v matrici stoupal od 0 % až do 10 %. Obsahy chlorovaných derivátů glycerolu stoupaly do obsahu vody 5 %. Následně docházelo k hydrolýze a k rozkladu těchto sloučenin. Obsah glycidyl-palmitátu taktéž stoupal do obsahu 5 % a zůstal konstantní do 10 % (Obr.8). Zvyšováním obsahu vody docházelo k rozkladu monopalmitinu, k největší konverzi docházelo při 5% obsahu vody. Majoritním rozkladným produktem byla kyselina palmitová.



Obr. 6: Vliv obsahu vody

(200 °C obsahu chloridů 0,5 % a obsahu vody 0,5 %)

Obr. 7: Vliv obsahu vody

Závěr

V této práci byly připraveny modely, které prezentují vznik procesních kontaminantů z acylglycerolů. Tvorba esterů 3-MCPD a glycidylesterů z monopalmitinu, jako zástupce monoacylglycerolů, byla zkoumána za podmínek dosahovaných při průmyslovém i kulinárním zpracování potravinářských surovin a potravin. V rámci těchto podmínek se ukázalo, že koncentrace sledovaných kontaminantů pozitivně koreluje s teplotou a koncentrací chloridových iontů. K jejich úbytku dochází až po relativně delší době (při 200 °C až po více než 2 h).

Poděkování

Tato práce byla realizována za podpory Food Standards Agency C04075 (London, GB), projektu MSM6046137305 a účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum MŠMT (Rozhodnutí č. 21/2011).

Literatura

Commission Regulation 466/2001, Off. J. Eur. Commun., 2001 N°L77/12.

Franke K., Strijowski U., Fleck G., Pudiel F.: Influence of chemical refining process and oil type on bound 3-chloro-1,2-propanediol contents in palm oil and rapeseed oil. LWT-Food Sci. Technol. 42, 1751-1754 (2009).

Doležal M., Kněz V., Zelinková Z., Réblová Z., Velíšek J.: Vznik a degradace esterů 3-chloropropan-1,2-diolu s mastnými kyselinami. Sbor. přednášek z XLIV. Mezinárodní konference z technologie a analytiky tuků, Liptovský Ján, Slovenská republika, 10.-12.5. 2006.

Schlatter J., Baars A.J., DiNovi M., Lawrie S., Lorentzen R.: 3-Chloro-1,2-propanediol. In: WHO food additives series 48. Safety evaluation of certain food additives and contaminants, prepared by the Fifty-seventh Meeting of the Joint FAO/WHO Rome 2001, (2002).

Velíšek J., Davídek J., Hajšlová J., Kubelka V., Janíček, Mánková B.: Chlorhydrins in protein hydrolysates, Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung, **167**, 241-244 (1978).

Zelinková Z., Svejková B., Velíšek J., Doležal M.: Fatty acid esters of 3-chloropropane-1,2-diol in edible oils. Food Addit. Contam. 23, 1290-1298 (2006).

R 27 **α -DIKARBONYLOVÉ SLOUČENINY V KÁVĚ**

Cejpek K., Kavalírová J., Konečný M., Velíšek J.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6

V komplexu reakcí neenzymového hnědnutí hrají klíčovou roli meziprodukty transformace sacharidů s α -dikarbonylovou strukturou. Jsou bezprostředními prekurzory řady heterocyklických sloučenin, zásadně se podílejí na vzniku Streckerových aldehydů nebo melanoidinů. Reakce α -dikarbonylových sloučenin (α -DK) v potravinách jsou úzce spojeny také s tvorbou některých tepelně indukovaných kontaminantů (akrylamidu), antioxidantů (reduktonů) a aduktů s bílkovinami. Přítomnost α -DK ve stravě spojována s možnými zdravotními riziky i prospěchem, přestože se v potravinách vyskytují v poměrně nízkých hladinách. Významným zdrojem α -DK je mj. káva, poživatina, která představuje směs produktů Maillardovy reakce *par excellence*. Metoda stanovení α -DK v poměrně složité směsi kávového nápoje zahrnuje extrakci na tuhou fázi (SPE), převedení analytů na deriváty chinoxalinu a jejich separaci metodou HPLC. Pro α -dikarbonylové produkty fragmentace sacharidů – glyoxal (G), methylglyoxal (MG) a biacetyl (BA) - byly určeny pracovní charakteristiky metody. Metoda byla aplikována pro sledování změn α -DK během pražení, skladování a v závislosti na způsobu přípravy nápoje. Diskutován je poměr koncentrací α -DK a jejich partnerů v redoxním páru, příslušných α -hydroxykarbonylových sloučenin (α -HK), a souvislost s celkovým redoxním potenciálem..

Úvod

Během neenzymové transformace sacharidů vznikají tři skupiny α -dikarbonylových sloučenin (α -DK) - (i) α -dikarbonyly s intaktním uhlíkovým řetězcem cukru, (ii) α -dikarbonyly vznikající během např. Streckerovy degradace z 1-deoxydiulos a (iii) α -dikarbonylové produkty fragmentace cukrů (např. methylglyoxal, biacetyl). Primární α -DK (i) vznikají přímo z Amadoriho sloučenin a vykazují nízkou stabilitu. Mezi produkty jejich transformace patří mj. právě sekundární α -DK s intaktním skeletem (ii) a fragmentární struktury (iii). Fragmentují jednak samotné cukry, jednak produkty reakce cukrů s aminosloučeninami, např. ketosaminy vzniklé v průběhu Maillardovy reakce. Mezi základní mechanismy vzniku sloučenin s nižším počtem uhlíků než má výchozí sacharid řadíme retroaldolizaci, hydrolytické štěpení α -dikarbonylové struktury, oxidační štěpení α -dikarbonylové struktury a hydrolytické štěpení β -dikarbonylové struktury. V systémech hexos jsou hlavními bezprostředními prekurzory produktů s kratším řetězcem glykosulosa (oxidační podmínky) a 1-deoxyglykosulosa. Kromě neenzymové transformace sacharidů (karamelizace, Maillardova reakce) jsou zdrojem fragmentárních α -DK a α -HK další reakce, zejména oxidace lipidů a fermentační procesy. Exogenním zdrojem těchto látek pro člověka je mnoho potravin (pekařské výrobky) včetně nápojů (pivo, víno), ale i kouř z cigaret. Např. nejvyšší koncentrace methylglyoxalu obsahuje novozélandský med manuka (38-829 mg/kg - Adams *et al.*, 2009) a vedle nealkoholických nápojů s přídavkem fruktosových sirupů (Kavalírová., 2012) také káva (až 47 mg/kg – Daglia *et al.*, 2007).

α -DK sloučeniny jsou tvořeny při pražení kávy během Maillardovy reakce. Daglia *et al.* (2007) zjistili, že na obsah α -DK sloučenin v kávě má značný vliv stupeň (doba) pražení. Jejich množství se zvyšuje v brzkých fázích pražení (6-10 min) a poté klesá. Malé množství glyoxalu a methylglyoxalu může být přítomno již v zelených kávových bobech, kde jsou nejspíše tvořeny jako sekundární produkty oxidace lipidů. Oproti tomu biacetyl v zelených kávových bobech dosud nalezen nebyl. Během pražení se tvoří až v pozdějších fázích (14-16 min).

Většina studií se primárně zaměřuje na stanovení methylglyoxalu, který je považován za jednu z klíčových α -DK sloučenin. Rozdíly mezi nalezenými obsahy α -DK sloučenin jsou vysvětlovány odlišnostmi analyzovaných kávových zrn z hlediska jejich původu a složení (obsah fenolových látek, lipidů, sacharidů, bílkovin a kofeinu), způsobu pražení a přípravy nálevu, přídavku smetany, době skladování či použité analytické metodě. Přídavkem smetany do kávy množství volného methylglyoxalu významně klesá, neboť methylglyoxal reaguje s argininovými a lysinovými zbytky

postranních řetězců bílkovin smetany. Zatímco schopnost fenolových látek vychytávat reaktivní dikarboxylové sloučeniny a tím inhibovat vznik tzv. produktů pokročilé glykace (AGEs) *in vivo* a melanoidinů *ex vivo* byla popsána např. pro čaj a jablka, schopnost fenolových látek kávy, zejména derivátů hydroxyskořicové kyseliny, snižovat množství α -DK sloučenin nebyla dosud šetřena, stejně tak jako změny v koncentracích α -DK během skladování kávy.

α -Hydroxykarboxylové produkty fragmentace sacharidů (α -HK) jsou obvykle sledovány jako produkty fermentačních reakcí ve výrobcích typu pivo, víno a sýry. α -HK zároveň tvoří s α -DK redoxní páry, a mohou tak do jisté míry ovlivňovat redoxní stav potravin. Poměr α -HK/ α -DK v reakčních směsích sacharidů více či méně souvisí s celkovým redoxním potenciálem prostředí. Redukující členové redoxního páru (α -HK) mohou snižovat redoxní potenciál prostředí a vytvářet tak více redukční prostředí. Navíc ušlechtilé α -DK jsou samy často reduktory. Fragmentární α -DK mohou snižovat redoxní potenciál nepřímou, buďto jako prekurzory redukujících látek - např. z biacetylu vznikají 2,5-dimethyl-1,4-hydrochinon a 4,5-dimethylcatechol (Cejpek *et al.*, 2005) - nebo další oxidací na redox-inaktivní kyseliny.

Cílem práce je optimalizace metod pro stanovení α -dikarboxylových (α -DK) a α -hydroxykarboxylových (α -HK) produktů fragmentace sacharidů ve vodných vzorcích nebo extraktech vzorků potravin. Pracovní charakteristiky metod jsou zjištěny pro vzorky kávy, která představuje složitou a komplexní matici. Dalším úkolem je zjistit, zda hodnota celkového redoxního potenciálu (ORP) extraktů může reflektovat poměr redoxních párů α -HK/ α -DK. Sledovány jsou rovněž změny koncentrace α -DK a α -HK v kávě během skladování. Tématem je též nalezení vztahu mezi hladinami α -DK a α -HK a stupněm pražení a způsobu přípravy kávového nápoje a srovnání hladin α -DK a α -HK v mleté kávě, instantní kávě a náhražkách kávy.

Experimentální část

Metoda stanovení α -dikarboxylových sloučenin

Kávová zrna byla rozemleta v mlýnku na kávu. Množství 5 g kávových zrn (instantní kávy, kávoviny) bylo naváženo do 50 ml odměrné baňky a přelito vroucí vodou (20 ml). Extrakt byl po 10 min stání doplněn po rysku vodou a poté přefiltrován. Pro přečištění vzorku byla použita SPE kolona LiChrolut, RP-select B s 200 mg sorbentu (Merck). Přečištěný extrakt byl v odměrné baňce smíchán s 1 ml *o*-ftalaldehydu ($c = 10$ mmol/l) a doplněn vodou na 5 ml. Derivatizace proběhla při pH 8 a 60 °C během 1 h. Po derivatizaci byly zfiltrované vzorky (0,45 μ m) analyzovány na kapalinovém chromatografu (515 HPLC PUMP v binárním uspořádání s detektorem fotodiodového pole PDA 996, Waters) pomocí kolony KINETEX PFP o rozměrech 100 x 4,6 mm x 2,6 μ m (Phenomenex) a gradientové eluce směsi octové kyseliny (pH 3) a methanolu.

Metoda stanovení α -hydroxykarboxylových sloučenin

V 10 ml extraktu vzorku bylo rozpuštěno 0,1 g *O*-ethylhydroxylaminu.HCl. Pomocí 1M NaOH bylo upraveno pH na hodnotu 7,5. Reakce proběhla v uzavřeném systému při 40 °C po dobu 2 h. Po vytvoření oximů bylo pH roztoku upraveno na 6 (0,1 M HCl) a směs byla extrahována 3 x 20 ml diethyletheru. Získaný směsný extrakt byl přesušen přes bezvodý síran sodný, který byl následně ještě promyt 5 ml diethyletheru. Extrakt byl zahuštěn právě do sucha a rozpuštěn v 1,5 ml diethyletheru. Po derivatizaci a extrakci do diethyletheru byly vzorky analyzovány na plynovém chromatografu 6890N s kvadrupolovým MS detektorem 5973 a kapilární kolonou HP Innovax (30 m, 0,25 mm, 0,25 μ m, vše Agilent Technologies).

Výsledky a diskuse

Optimalizace podmínek metod stanovení α -DK a α -HK

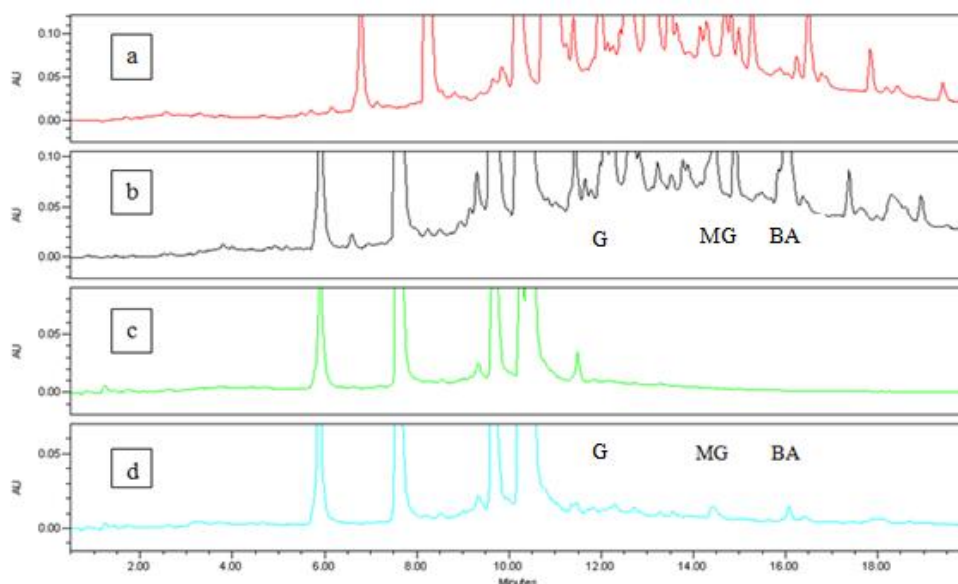
Jak vyplývá z vlastností fragmentárních α -DK i literárních údajů, spolehlivé stanovení těchto látek probíhá až po derivatizaci. Výběr vhodného derivatizačního činidla a podmínek jeho aplikace je pro potraviny (extrakty) se značně reaktivními systémy sacharidů zásadní záležitost. Stanovení

fragmentárních α -DK společně s α -HK jednou metodou sice teoreticky možné je (po oximaci a silylaci, nebo jako hydraziny), ale již vzhledem k řádovým rozdílům v koncentraci α -DK a výchozích sacharidů (jsou to také α -HK struktury) je výtěžek a opakovatelnost stanovení derivatizačních reakcí problematická. Proto je vhodné stanovení α -DK a α -HK provádět separátně.

Výběr selektivního činidla pro stanovení α -DK byl proveden s ohledem na dostatečnou rychlost reakce činidla s α -DK a minimální ovlivnění rovnováhy Maillardovy reakce. Jako vhodné činidlo byl zvolen *o*-fenyldiamin (OPA), optimální podmínky derivatizace jsou pH 8, teplota 60 °C a doba reakce 1 h, neboť již dochází k úplnému zreagování přítomného glyoxalu, methylglyoxalu a biacetylu ve směsi.

Optimalizované parametry metody SPE pro přečištění vzorku zahrnují aplikovaný objem vzorku vzhledem k hmotnosti sorbentu v kolonce (1 ml/200 mg) a hodnotu pH aplikovaného vzorku (pH 8). Nutnost přečištění pro stanovení hladin α -DK typických pro kávové nápoje ilustruje obr. 1. Za účelem optimalizace separace přečištěného nálevu metodou HPLC bylo testováno několik kolon se dvěma druhy stacionárních fází s komplementární selektivitou, danou různými ligandy – oktadecylsilylovými a pentafluorfenylovými (PFP). Lepší separační parametry byly dosaženy na koloně s PFP stacionární fází. Hodnoty meze stanovitelnosti v nálevech kávy byly odhadnuty na 6 mg/kg pro glyoxal, 3 mg/kg pro methylglyoxal a 6 mg/kg pro biacetyl.

Stanovení fragmentárních α -HK sloučenin v potravinách i Maillardových modelových systémech není rozhodně častou záležitostí. Stávající použité metody zahrnují derivatizaci a stanovení metodami GC, které poskytují lepší rozlišení a citlivost než HPLC. α -HK sloučeniny byly analyzovány ve formě stabilních *O*-ethyloximů po reakci s *O*-ethylhydroxylaminem hydrochloridem. Glykolaldehyd (GA), hydroxyaceton (HA, acetol) a acetoin (Ac) byly po derivatizaci extrahovány diethyletherem a po zkoncentrování extraktu přímo analyzovány GC/MS metodou. Zjištěné meze stanovitelnosti pro α -HK v kávovém nálevu metodou GC/MS jsou o řád lepší než pro α -DK a činí 0,1 mg/kg pro glykolaldehyd, 0,2 mg/kg pro hydroxyaceton a 0,2 mg/kg pro acetoin.



Obr. 1 HPLC chromatogram vzorku kávy a) bez přečištění a bez derivatizace, b) bez přečištění s derivatizací, c) s přečištěním bez derivatizace, d) s přečištěním a s derivatizací OPA, $\lambda=314$ nm.

Změny α -DK a α -HK v kávě

Vzhledem k rozdílnému způsobu a době skladování kávy bylo při zjišťování hladin α -DK a α -HK vhodné zjistit, do jaké míry se jejich hladina v kávě mění, a zda je při sledování obsahu těchto látek uvádět mj. i způsob uchovávání a datum pražení kávy. V prvních hodinách a dnech po

upražení kávového zrna dochází ještě k poměrně intenzivním reakcím přítomných intermediátů. Jen během dvoutýdenního skladování kávy při pokojové teplotě uzavřené v zábrusové lahvi ve tmě došlo u skladovaných celých zrn k úbytku 87 % GA, 96 % HA a 92 % Ac. U skladovaných namletých zrn se množství GA snížilo na 15 %, HA na 7 % a Ac na 9 %. Z toho je zřejmé, že v tomto ohledu není rozdíl mezi mletou a zrnkovou kávou. Pokles dominantního fragmentárního α -HK, tedy HA, je způsoben následnými reakcemi, zřejmě hlavně aldolizačními; určitou roli mohou hrát i adiční reakce na volné či vázané deriváty hydroxyskořicových kyselin. Pokud jde o fragmentární α -DK, u skladovaných celých zrn došlo k úbytku 61 % MG během 11 dní, zatímco obsah BA narostl o 19 %. U skladovaných namletých zrn se množství MG snížilo na 37 % a množství BA na 83 %. Významné rozdíly mezi stabilitou BA ve skladované mleté a nemleté (zrnkové) kávě naznačují možný vliv oxidace na pokles BA v mleté kávě.

Množství redukujících sacharidů činí v kávě druhu *arabika* 0,2-0,5 % v sušině (sacharosy 6-9 %), v pražené už jen stopy (sacharosy 0,1-2,8 %). Možným zdrojem α -DK jsou i oxidované lipidy (kolem 17 % v zelené i pražené kávě). Glyoxal (G) byl pod mezí detekce i ve vzorcích středně pražené a silně pražené kávy (cca 2 měsíce od pražení). Množství MG ve středně pražené kávě je nižší (15 mg/kg) než v silně pražené kávě (24 mg/kg). Glyoxal v Maillardových systémech vzniká dříve než MG a také rychleji proreaguje, proto se v zrnech pražených do vyšších stupňů již nemusí vyskytovat v detekovatelných koncentracích. Kinetika vzniku biacetylu (BA) je odlišná od MG – BA vzniká ve větších množstvích až v intenzivněji pražených kávových zrnech.

Zatímco rozdíl v obsahu α -DK v kávě s kofeinem a bez kofeinu není významný, výroba instantní kávy představuje podmínky (vodný extrakt, odstranění vody, granulace, možný přidaný cukr), které umožňují rozvoj Maillardovy reakce a vznik většího množství α -DK. To je zřejmě důvodem vyšších obsahů zejména MG v rozpustné kávě, ale také v kávovinách. Co se týká způsobu přípravy kávového nálevu, je u espressa ve srovnání s prostou přelitou kávou („turecká káva“) možný vyšší přenos zejména polárnějších α -DK. MG je v jinak stejném vzorku kávy u espressa významně více, zatímco v případě biacetylu tomu tak není.

Obsah α -HK, resp. poměr koncentrací α -HK/ α -DK, se v různých kávách výrazně liší. Např. při přípravě espressa do nápoje přejde jen asi třetina α -HK látek ve srovnání s prostým výluhem („turecká káva“). Nápoje z rozpustné kávy mají ve srovnání s ostatními vzorky relativně málo α -HK oproti α -DK. To může souviset s vyšší pravděpodobností oxidace kyslíkem během přípravy instantních káv. Na rozdíl od čistě „Maillardových“ systémů (modelové směsi glukosy nebo sirupy) v případě nálevů z kávy hodnota celkového redoxního potenciálu (ORP, vyjádřeného jako rH) s poměrem stanovených koncentrací α -HK/ α -DK nijak nekoreluje, neboť káva obsahuje řádově vyšší množství dalších redox-aktivních látek.

Poděkování

Tato práce byla uskutečněna s podporou Ministerstva školství, mládeže a sportu v rámci projektu MŠM 6046137305.

Literatura

- Adams C.J., Manley-Harris M., Molan P.C. **2009**, Carbohydr. Res. 8, 1050-1053.
- Cejpek K., Jarolímová L., Velíšek J. In. Eklund T., Schwarz M., Steinhart H., Thier H.-P., Winterhalter P., Eds. Proc. Euro Food Chem XIII, Hamburg, Germany, **2005**, Vol. 1, pp 334-337.
- Daglia M., Pappeti A., Aceti C., Sordelli B., Spini V., Gazzani G. **2007**, J. Agric. Food Chem. 55: 8877-8882.
- Kavalířová J.. **2012**. α -Dikarbonylové a α -hydroxykarbonylové produkty fragmentace sacharidů v potravinách. Diplomová práce. VŠCHT, Praha.

R 28**ADHEZNÍ VLASTNOSTI ANAEROBNÍCH KONTAMINANTŮ V PIVOVARSTVÍ**

Bittner M. (1)., Procházková G. (1), Matoulková D. (2), Brányik T. (1)

(1) Ústav biotechnologie, VŠCHT Praha, (2) Výzkumný ústav pivovarský a sladařský Praha

ABSTRAKT

Anaerobní bakterie jsou důležitá skupina kontaminantů potravin. Mezi obávané bakteriální kontaminanty piva patří zástupci rodů *Pectinatus* a *Megasphaera*. Předpokládá se, že zástupci těchto rodů mohou dlouhodobě přežívat v pivovarském prostředí díky své schopnosti vytvářet, nebo být součástí biofilmu. Cílem práce bylo určit povrchové vlastnosti výše zmíněných druhů bakterií vyskytujících se v potravinářských provozech a materiálů typických pro výrobní zařízení v potravinářství (ocel, plasty, sklo, keramika). Práce je založena na predikci adheze, aplikací termodynamického modelu, DLVO a XDLVO teorie, popisující adhezi buněk na pevný nosič z fyzikálně-chemického hlediska. Stejným způsobem bylo vyhodnoceno také riziko buněčné adheze na různé pevné materiály a mazadla z potravinářských provozů. Skutečná míra adheze byla měřena pomocí adhezních testů, které byly provedeny ve vsádkovém režimu, kdy byl modelový nosič (skleněný nosič – čistý, různě modifikovaný) umístěn v kultivačním zařízení po celou dobu růstu mikroorganismu. Míra adheze byla posléze vyhodnocena pomocí obrazové analýzy.

R 29

OCTOVÉ BAKTERIE JAKO PŘÍČINA KAŽENÍ NEALKOHOLICKÝCH NÁPOJŮ

Duchová I.¹, Horsáková I.¹, Čížková H.¹, Slavíková B.¹, Voldřich M.¹¹⁾ Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

ÚVOD

V nealkoholických nesycených nápojích se vyskytují senzorické defekty (zákaly, sedimenty, plovoucí klky), které jsou způsobeny mikrobiální kontaminací. Z defektních nápojů byly vedle dalších izolovány bakterie octového kvašení (rod *Asaia* a *Gluconoacetobacter*). Bakterie octového kvašení jsou schopné tvořit na povrchu výrobního zařízení biofilm. Nárůst biofilmu může trvat několik měsíců a poté se z něj mohou uvolňovat jednotlivé buňky do vyráběného produktu. Identifikace příčiny senzorického defektu je často problematická. Většinou je defekt nápoje způsoben souborem několika porušení dobré výrobní praxe. Práh vnímání konkrétní látky zodpovědné za nestandardní (defektní) vůni je v řadě případů nižší než mez detekce používaných analytických metod.

Aktuálním problémem při výrobě nealkoholických nápojů jsou bakterie octového kvašení rodu *Asaia* sp. Nesycené sladké nápoje jsou vhodným prostředím pro nárůst těchto bakterií. Jedná se o gramnegativní fermentující bakterie, na Petriho miskách tvoří ostře ohraničené kolonie světle růžové barvy. Bakterie *Asaia* sp. jsou kataláza pozitivní, oxidáza negativní, s optimální teplotou růstu 22 – 30 °C. Při teplotě 37 °C je jejich růst inhibován, proto je předpoklad, že bakterie rodu *Asaia* sp. nejsou alimentárním patogenem (dosud publikované literární údaje toto potvrzují). Bakterie octového kvašení jsou schopny růst při nízkých hodnotách pH (pH < 3), což odpovídá pH hotových nealkoholických nápojů.

Cílem práce bylo na modelových nápojích zhodnotit, do jaké míry mohou bakterie octového kvašení měnit smyslové vlastnosti nápoje kromě výše popsané tvorby zákalů až klků (např. tvorba senzoricky aktivních metabolitů, degradace složek nápoje).

MATERIÁL A METODY

Příprava vzorků

Pro přípravu modelových vzorků byly použity jemně perlivé nápoje dvou předních českých výrobců s příchutí pomeranče.

Složení vzorek A: pramenitá voda, invertovaný cukr, CO₂, kyseliny: kyselina citronová, aroma, sladidla: cyklamát sodný, sacharin acesulfam K, aspartam.

Složení vzorek B: minerální voda, cukr, aroma, regulátor kyselosti: kyselin citronová.

100 ml modelové nápoje bylo zaočkováno 0,1 ml bakteriální suspenzí *Asaia* sp. ($1,8 \cdot 10^7$ KTJ/ml), promícháno a sterilně odebrány 4 ml do vialek pro SPME analýzu. Vzorky byly kultivovány při pokojové teplotě (22 °C) a po 0, 1, 3 a 5ti dnech byly zamrazovány a při teplotě -18 °C uchovávány pro SPME analýzu.

Nárůst *Asaia* sp. ve vzorcích spolu se charakterizací smyslových změn je uveden v tab. č. 1.

Tab. 1: Nárůst *Asaia* sp. ve vzorcích

	KTJ/ml	Vůně
Den 0	$1,8 \cdot 10^7$	Typická, citrusová, nasládlá
Den 1	$2,1 \cdot 10^7$	Mírně netypická, citrusová, nasládlá
Den 3	$4,1 \cdot 10^7$	Netypická, ketonická, alkoholická
Den 5	$5,9 \cdot 10^7$	Netypická, ketonická, alkoholická

SPME/GC/MS analýza

Profil těkavých látek byl stanoven metodou SPME s využitím plynového chromatografu 7890A Agilent Technologies s hmotnostním detektorem 5975C Agilent Technologies.

Izolační podmínky: DVB/CarboxenTM/PDMS StableFlexTM vlákno 50/30 μm , temperování vzorku 1 minutu při teplotě 40 °C, míchání při otáčkách 500 rpm, extrakce 10 minut při teplotě 40 °C, desorpce 4 minuty při teplotě 240 °C.

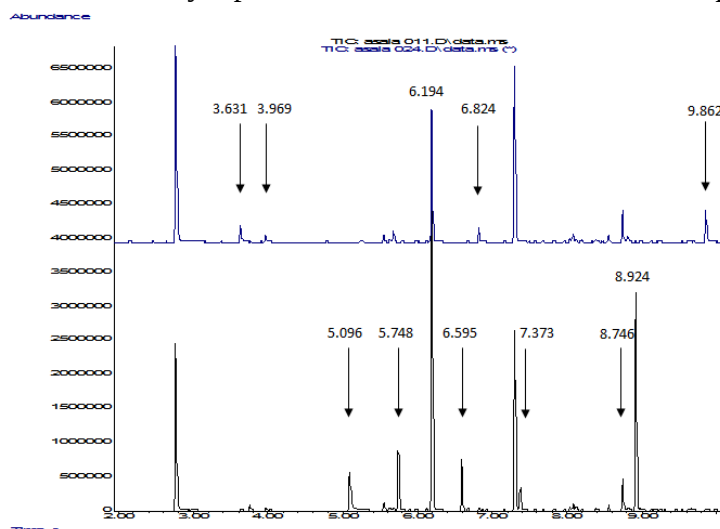
Chromatografické podmínky: kolona HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane (Agilent), 30 m x 250 μm x 0,25 μm ; teplotní program: 60 °C (výdrž 2 min), 10 °C.min⁻¹ na 320 °C (průběh 30 min). Mobilní fáze helium, konstantní průtok 1,4 ml.min⁻¹.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Cílem práce bylo zhodnotit vliv bakteriální kontaminace *Asaia* sp. v nealkoholickém nápoji na vznik sensorického defektu tohoto nápoje. Sensorický defekt byl hodnocen na základě změn v profilu těkavých látek získaných SPME/GC/MS analýzou.

Vzorek A

Na níže uvedeném chromatogramu je vidět profil těkavých látek získaný SPME/GC/MS analýzou vzorku A ze dne 0 (černý graf) a po nárůstu *Asaia* sp. ve vzorku ze dne 5 (modrý graf). Šipky zvýrazňují retenční časy, v nichž se vzorky navzájem liší (uvedeno v tabulce č. 2). Identifikace látek byla provedena srovnáním hmotnostního spektra s knihovnou.



Obr. 1: Profil těkavých látek vzorku A ze dne 0 (černý graf) a ze dne 5 (modrý graf)

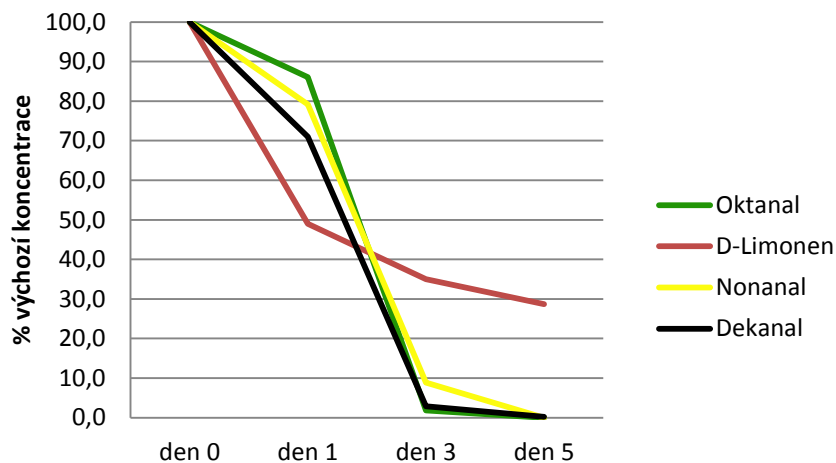
Tab. 2: Majoritní látky identifikované ve vzorku A, retenční časy a odpovídající plochy píků

RT	Identifikovaná látka	den 0	den 5
3.631	1-Hexanol	0	442
3.969	2-Heptanon	74	143
5.096	Benzaldehyd	1221	0
5.748	Oktanal	1241	0
6.194	D-Limonen	8405	2410
6.595	Propionová kyselina, 2-methyl-, 3-methylbutyl ester	1027	0
6.824	1-Oktanol	64	360
7.373	Nonanal	455	0
8.746	alfa-Terpineol	660	691
8.924	Dekanal	4556	9
9.862	1-Dekanol	73	753

Mezi látky, které jsou nositeli pomerančového aroma nápoje, patří oktanal (vůně: aldehydická, vosková, pomerančová s kůrovým odstínem), D-limonen (vůně: sladká, citrusová s kůrou), nonanal

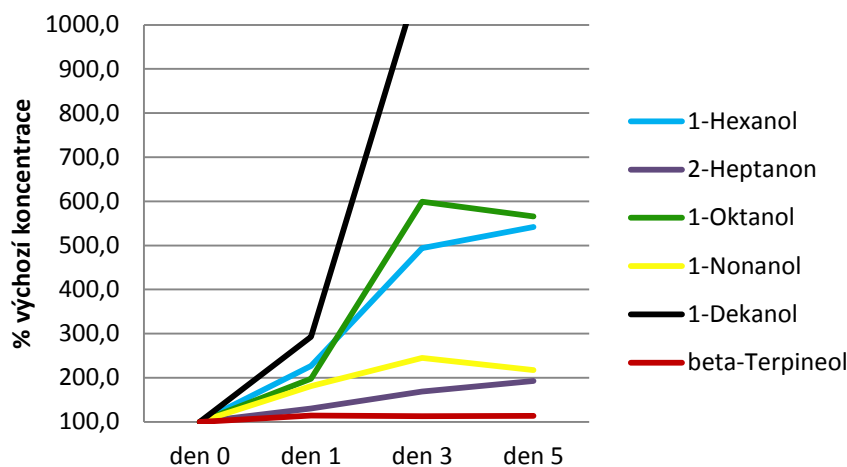
(vůně: aldehydická, vosková, citrusová s nuancí čerstvé nazelenalé citronové kůry), dekanal (vůně: sladká, aldehydická, vosková, pomerančová, citronová kůra) ad.

Na obrázku č. 2 je graficky znázorněna degradace látek, které se podílí na typickém pomerančovém aroma nápoje.



Obr. 2: Degradace látek zodpovědných za pomerančové aroma výrobku během 5ti denní kultivace

Na obrázku č. 3 jsou graficky znázorněny látky, které jsou více zastoupené u vzorků po nárůstu *Asaia* sp.. Sensorická charakterizace vybraných látek: 1-hexanol (vůně: štiplavá, éterická, přiboudlina, ovocná, alkoholická), 2-heptanon (vůně: sýrová, ovocná, ketonická, zelený banán), 1-oktanol (vůně: vosková, citrusová, aldehydická a květová se sladkým, tučným kokosovým odstínem), 1-dekanol (vůně: tučná, vosková, květová, pomerančová, sladká). U žádné z těchto látek však nepředpokládáme, že je konkrétní původce vzniklého příchuti.

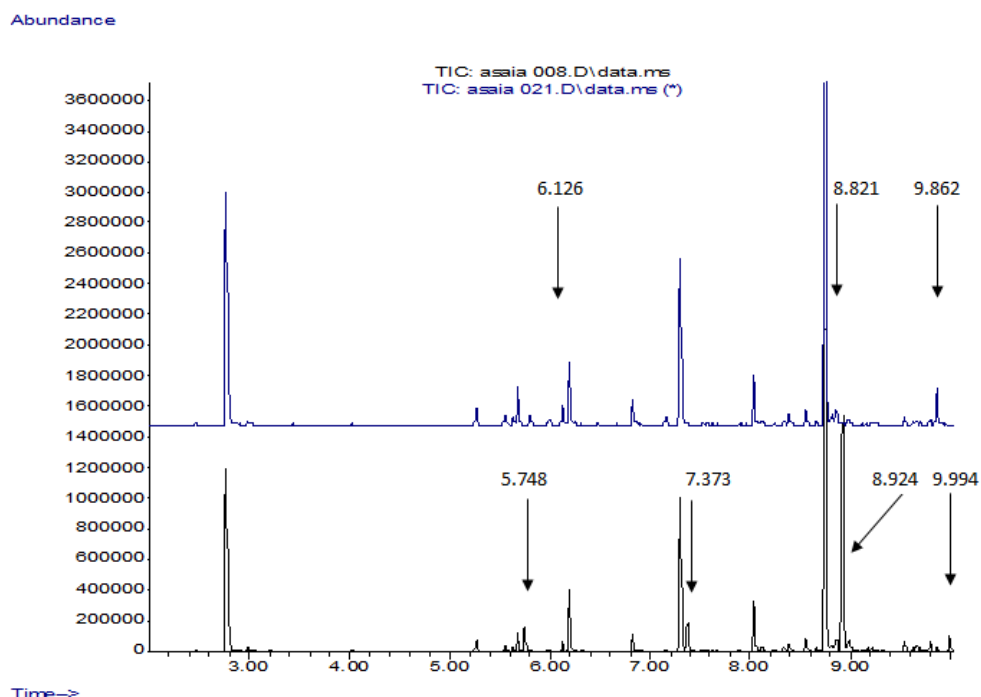


Obr. 3: Nárůst koncentrace látek během 5ti denní kultivace

Vzorek B

U modelového vzorku B byl z profilu těkavých látek pozorován ten samý trend jako u vzorku A. Tzn. degradace látek odpovědných za pomerančové aroma výrobku a u konaminovaného vzorku nárůst látek, které však nebyly identifikovány jako konkrétní původci vzniklého sensorického defektu.

Na níže uvedeném chromatogramu (Obr. 4) je vidět profil těkavých látek získaný SPME/GC/MS analýzou vzorku B ze dne 0 (černý graf) a po nárůstu *Asaia* sp. ve vzorku ze dne 5 (modrý graf).



Obr. 4: Profil těkavých látek vzorku B ze dne 0 (černý graf) a ze dne 5 (modrý graf)

ZÁVĚR

U modelových nápojů se nám podařilo prokázat, že bakterie rodu *Asaia* způsobují změny vůně nealkoholických nápojů a vznik zákalů v nich. Důvodem je degradace látek, které jsou nositeli pomerančového aroma nápoje. Identifikovali jsme soubor látek, které vznikají při růstu *Asaia* sp. v nápoji, ale nepodařilo se nám zatím identifikovat konkrétní látku zodpovědnou za nežádoucí přípach. Z dosud publikovaných literárních zdrojů není zřejmé, že by *Asaia* sp. vyvolávala negativní zdravotní reakce. Z tohoto pohledu se jedná „jen“ o technologický defekt, který negativně ovlivňuje senzorickou charakteristiku nápoje (změna vůně, chuti, vznik zákalu a sedimentu).

PODĚKOVÁNÍ

Projekt byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum MŠMT č. 21/2012.

POUŽITÁ LITERATURA

- Moore J.E., McCalmont M., Xu J., Millar Ch. and Heaney N. *Asaia* sp., an Unusual Spoilage Organism of Fruit-Flavored Bottled Water. *Applied and Environmental Microbiology*. 2002, 68(8):4130. DOI: 10.1128/AEM.68.8.4130-4131.2002.
- Bianchi F., Careri M., Mangia A., Mattarozzi M., Musci M., Concina I. and Gobbi E. Characterisation of the volatile profile of orange juice contaminated with *Alicyclobacillus acidoterrestris*. *Food Chemistry*. 2010, Vol. 123, p. 653-658.

R 30**PRŮKAZ A KVANTIFIKACE ARÓNIE V OVOCNÝCH ŠTÁVÁCH**

Čížková H., Rajchl A., Neradová E., Kapci B., Šnebergrová J., Grégrová A., Voldřich M.

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

ÚVOD

Arónie (*Aronia melanocarpa*, temnoplodec černý) patří do čeledi růžovitých (*Rosacea*), podčeledi malvoně (*Pomoideae*), řadí se mezi jádrové ovoce. Plody arónie mají díky svému chemickému složení pozitivní zdravotní účinky. Obsahují vitaminy skupiny B, vitamin C, karoten, značné množství minerálů, anthokyanů a další fenolické sloučeniny s antioxidačními účinky. Tmavomodré, poměrně kyselé a trpké plody arónie jsou konzumovány především ve formě šťávy a sirupů, dále se z ní vyrábí kompoty, džemy, víno, likéry, aj. Z důvodu kyselé a svíravé chuti šťávy arónie spotřebitelé upřednostňují směsi její šťávy s jinými druhy šťáv, jako jsou například jablečná, hrušková či z černého rybízu. Díky vysokému obsahu anthokyanů se čerstvá arónie nebo extrakt využívá v potravinářském průmyslu k přibarvování výrobků. **Cílem práce bylo navrhnout postup pro posouzení autenticity výrobků z arónie.**

MATERIÁL A METODY

Byl analyzován soubor autentických vzorků (šťávy, mražené plody a sušené rekonstituované plody a výlisky), vzorky o známém obsahu ovocné složky (domácí výrobky - džem, kompot a zavařenina), vzorky o neznámém obsahu a složení (sirupy a koncentráty).

Měřeny byly tyto markery ovocného podílu:

Rozpustná sušina: refraktometricky; Titrační kyselost: potenciometrická titrace roztokem hydroxidu draselného do pH 8,1; Formolové číslo: potenciometrická titrace do pH 8,1 po zablokování volných aminoskupin; Popel: gravimetricky do konstantní hmotnosti při teplotě 500°C; Fosfor: spektrofotometricky po reakci s heptamolybdenanem amonným za přítomnosti kyseliny askorbové, vlnová délka 720 nm; Draslík, sodík, vápník, hořčík: isotachoforeticky; Sacharidy a sorbitol: HPLC/RI; Organické kyseliny: HPLC/UV; Kyselina D-isocitronová: spektrofotometricky; Celkové polyfenoly: spektrofotometricky pomocí Folin-Ciocalteuova činidla; Anthokyanů: HPLC/DAD

VÝSLEDKY A DISKUSE

V práci byl nejprve proměřen soubor autentických vzorků se 100% podílem arónie za účelem navrhnout hodnoty nebo rozmezí pro 100% šťávu, podle kterých by se dala následně hodnotit autenticita výrobků (viz tabulka 1). Podle doporučení AIJN nepostačuje pouhé analytické stanovení, ale je nezbytné expertní posouzení výsledků, tj. vyloučení odlehlých hodnot, markerů ovlivněných např. zralostí, přidávkou aditiv (zejména cukrů a kyselin) nebo analytickou chybou. Bylo zjištěno, že potenciálními markery pro posouzení autenticity výrobků z arónie (stanovení ovocného podílu) by mohly být: formolové číslo, sacharosa, sorbitol, kyselina jablečná, chinová (případně citronová a isocitronová). Vždy však velmi záleží na konkrétním složení posuzovaného výrobku.

Tabulka 1: Návrh středních hodnot jednotlivých markerů pro posouzení autenticity výrobků z arónie

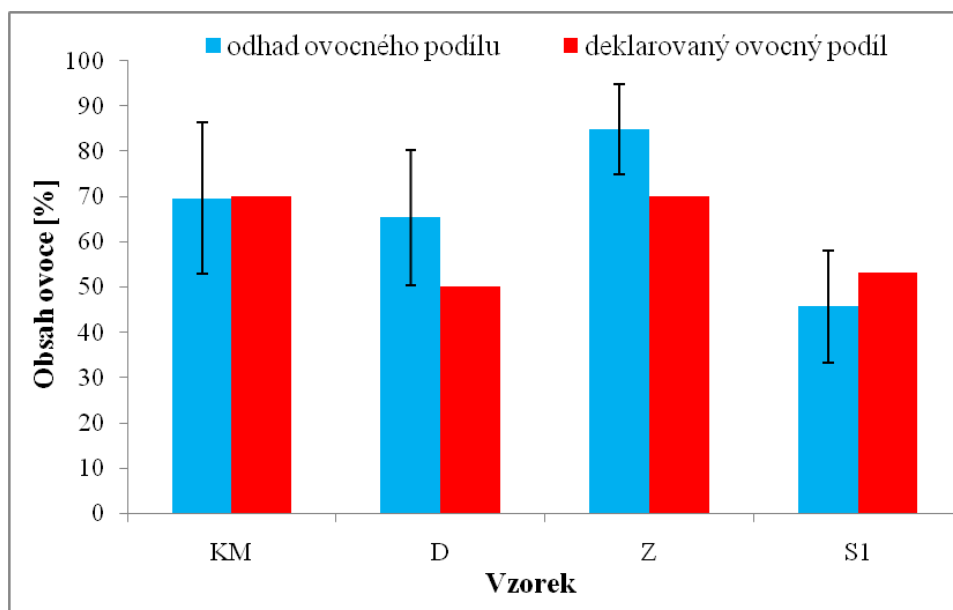
Marker	Jednotka	Naměřený rozsah autentických vzorků	Rozsah hodnot dle literatury	Navržená střední hodnota	Interpretační poznámky
Rozpustná sušina	°Brix	9,2 - 18,4	11,3 - 24,1	14,8	Rozpustná sušina přímo souvisí s podílem ovoce, ale je ovlivněna zralostí ovoce nebo s přidávkou cukrů a kyselin jako aditiv
Titrační	g kyseliny	4,2 - 10,4	7,0 - 14,0	8,4	Titrační kyselost je ovlivněna

kyselost	jablečné/kg				zralostí ovoce nebo přidavkem kyselin jako aditiv.
Formolové číslo	ml 0,1 M NaOH/100 g	5,6 - 11,2	6,5 - 14,0	8,7	Formolové číslo vyjadřuje obsah amonných iontů a v porovnání s obsahem aminokyselin je vyšší.
Popel	g/kg	4,2 - 6,9	3,6 – 7,0	5,6	
Fosfor	mg/kg	130 - 306	260 – 830	248	Obsah fosforu je ovlivněn technologickým zpracováním
Draslík	mg/kg	1254 - 2835	1969 – 2850	2375	Snížený obsah draslíku může být způsoben přidavkem jiného druhu ovoce (např. jahod, malin, jablek).
Sodík	mg/kg	40 - 136	5 – 26	90	
Vápník	mg/kg	28 - 214	130 – 322	128	Obsah vápníku je ovlivněn technologickým zpracováním
Hořčík	mg/kg	16 - 104	160 - 190	120	Obsah hořčíku je ovlivněn technologickým zpracováním
Sorbitol	g/kg	26,3 - 52,6	42 – 80	43,2	Nižší koncentrace ukazuje na možné naředění nebo záměnu ovocných druhů.
Glukosa	g/kg	18,6 - 44,5	40 – 41	33,5	Vyšší koncentrace glukosy indikuje přidavek cukru, příp. záměnu s jiným druhem ovoce.
Fruktosa	g/kg	14,8 - 35,5	37 – 38	31,9	Vyšší koncentrace fruktosy indikuje přidavek cukru, příp. záměnu s jiným druhem ovoce.
Poměr glu:fru	-	1,26	-	1,26	Odlišný poměr může znamenat Mikrobiální kontaminaci nebo záměnu s jiným druhem ovoce.
Sacharosa	g/kg	0	15	0	Sacharosa se běžně nevyskytuje. Její detekce ukazuje na přidavek cukru, nebo jiného druhu ovoce.
Kyselina L-jablečná	g/kg	4,0 - 8,1	9,0 – 13,1	7,6	Je majoritní kyselinou. Vyskytuje se pouze jako L-jablečná. K. D-jablečná se v arónii nevyskytuje, její detekce ukazuje na přidavek jako aditivum.
Kyselina chinová	g/kg	2,7 - 4,5	1,5 – 5,0	4,2	Nižší koncentrace k. chinové indikuje naředění, příp. záměnu s jiným druhem ovoce.
Kyselina citrónová	g/kg	0,55 - 0,96	0,25 – 2,10	0,68	Vyšší koncentrace k. citrónové ukazuje její přidavek jako aditivum.
Kyselina D-isocitrónová	g/kg	10,3 - 20,9	30 – 100	18,0	
Kyselina šikimová	g/kg	9,60 - 10,8	30 - 120	13,0	

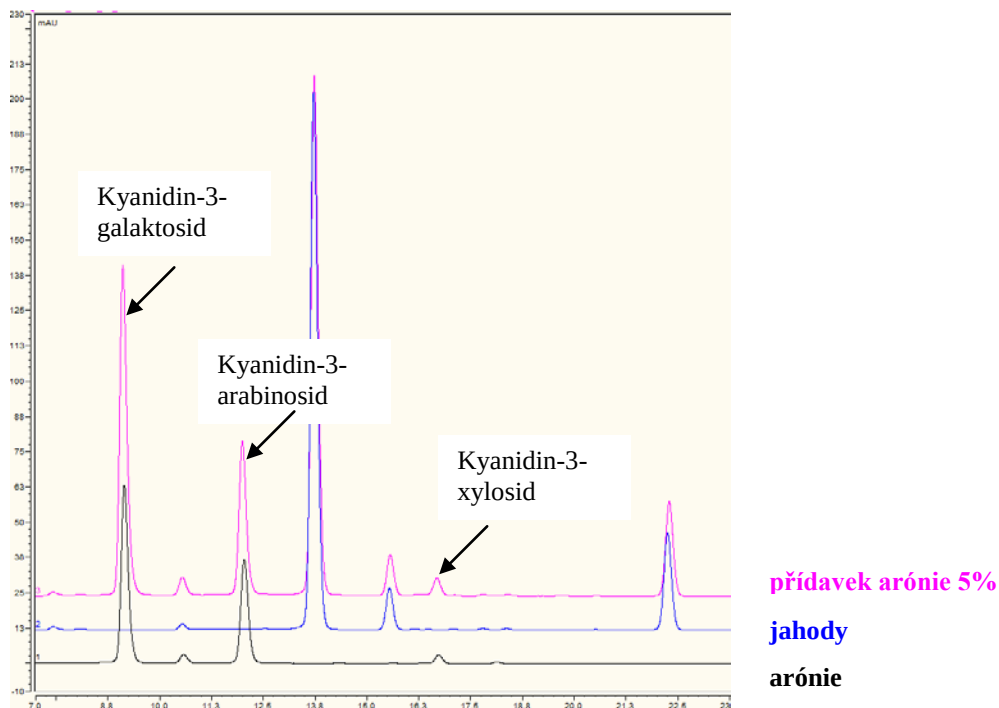
Barevně zvýrazněné významné markery pro posouzení autenticity

Skutečný podíl arónie ve reálných výrobcích byl vyhodnocen na základě porovnání navržených středních hodnot pro posouzení autenticity a naměřených hodnot. V práci jsme kvantifikovali ovocný podíl u jednodruhových výrobků (kompot KM, džem D, zavařenina Z a sirup S1), výsledky jsou znázorněny na obrázku 1. Odhad obsahu arónie je ovšem zatížen cca 20% nejistotou, což může být způsobeno především malým počtem analyzovaných autentických vzorků, ale i nedostatkem údajů v literatuře. Zjištěné rozdíly mezi odhadnutým a deklarovaným ovocným podílem mohou být způsobeny nestandardní variabilitou suroviny (odrůda ovoce, stupeň zralosti, klimatické podmínky, podnebí, atd.), technologií výroby (vliv na obsah minerálů – kvalita použité vody), nebo analytickou chybou. Z těchto důvodů nelze do výpočtu ovocného podílu zahrnout hodnoty celkových polyfenolů a anthokyanů, které během technologického zpracování a při následném skladování degradují. Dále do výpočtu jednodruhových výrobků nebyly zahrnuty hodnoty rozpustné sušiny, titrační kyselosti, kyseliny citronové, sacharosy, glukosy a fruktosy, jelikož tyto látky byly součástí receptury a uměle by tak navyšovaly skutečný podíl arónie.

Obrázek 1: Odhad ovocného podílu u jednodruhových výrobků



Anthokyaniny jako kvalitativní marker mohou být vhodným nástrojem k detekci falšování. Profil charakteristických anthokyanů změřených pomocí HPLC může sloužit pro průkaz nedeklarovaného použití arónie k dobarvení ovocných šťáv a džemů (např. jahodových, malinových, černorybízových). Charakteristické anthokyaniny v arónii jsou kyanidin-3-galaktosid, kyanidin-3-glukosid, kyanidin-3-arabinosid a kyanidin-3-xylosid. Z obrázku 2, na němž jsou překryté chromatogramy arónie, jahod a 5% přídavku arónie do jahod, je patrné, že autentické jahody přirozeně neobsahují některé z charakteristických anthokyanů arónie (kyanidin-3-galaktosid, kyanidin-3-arabinosid a kyanidin-3-xylosid), tudíž již 5% přídavek arónie by byl velmi dobře odhalen.

Obrázek 2: Překryté chromatogramy profilů anthokyanů (arónie, jahody, 5% přidavek arónie)

ZÁVĚR

Ve studii byl navržen postup pro hodnocení autenticity výrobků z arónie. Vhodnými markery pro odhad ovocného podílu by mohly být formolové číslo, sacharosa, sorbitol, kyselina jablečná, kyselina chinová. Vždy ovšem velmi záleží na konkrétním složení posuzovaného výrobku. Odhad ovocného podílu je zatížen relativně vysokou chybou, způsobenou značnou variabilitou vybraných markerů ve vstupní surovině. Rovněž je potřeba proměřit širší spektrum vzorků pro jednoznačné určení rozsahu jednotlivých markerů. Při odhadu ovocného podílu nelze počítat s fenolickými látkami kvůli své nestabilitě během technologického zpracování a skladování, tyto markery mohou být vhodným nástrojem k odhalení nedeklarovaného přibarvení arónií a to díky svému charakteristickému profilu anthokyanů.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce byla financována z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 21/2012) a z podpory projektu MZe Q191B283.

POUŽITÁ LITERATURA

- Bermúdez-Soto M., Tomás-Barberán F. A.: Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices. *Eur Food Res Technol* (2004) 219:133–141
- Skupién K., Oszmiński J.: The effect of mineral fertilization on nutritive value and biological activity of chokeberry fruit. *Agricultural and Food Science*, Vol. 16, 2007, 46-55.
- Jakobek L. Et al: Antioxidant activity and polyphenols of aronia in comparison to other berry species. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, Vol. 72, 2007, No. 4, 301-306.

P 1**VYUŽITÍ NIR SPEKTROSKOPIE V ANALYTICE ODRŮDOVÉHO ZKUŠEBNICTVÍ**

Šulová R., Čížmár D., Pospíchalová M.

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno

ABSTRAKT

V Národní referenční laboratoři ÚKZÚZ se provádí chemické rozborů vybraných zemědělských plodin pro Národní odrůdový úřad. Výsledky těchto rozborů slouží jako podklady pro administrativní rozhodnutí registrace odrůd v České republice.

Jednou z nejdůležitějších moderních analytických metod používaných pro stanovení základních složek zemědělských plodin je metoda NIRS (spektroskopie v blízké infračervené oblasti). V ÚKZÚZ je používána už od roku 1999 a od roku 2000 je akreditována podle ISO 17025. Tato metoda si díky své praktičnosti získala v analytické praxi během relativně krátké doby velkou oblibu. Její významnou předností jsou zejména rychlost analýzy, snadná manipulace se vzorkem a možnost stanovení široké škály parametrů v rámci jednoho proměření, a to pro nejrozličnější matrice. I přes vysoké počáteční investiční výdaje se tak díky významné úspoře chemikálií a především času řadí k analytickým postupům s velkou budoucností. Technika NIR pracuje na principu použití kalibračního modelu pro sledovaný parametr a danou matici.

P 2**STANOVENÍ OBSAHU LIPIDŮ A ZASTOUPENÍ MASTNÝCH KYSELIN V OBILCE JEČMENE A VE SLADU**

Svoboda Z., Mikulíková R., Běláková S., Benešová K.

Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Sladařský ústav Brno, Mostecká 7, 614 00 Brno

ABSTRAKT

Vzhledem k tomu, že mastné kyseliny obsažené v obilce ječmene a následně ve sladu mohou být zdrojem mnohých senzoricky aktivních látek v pivu, bylo nutné zavést a optimalizovat metody stanovení tuků a mastných kyselin ve výchozích surovinách. Ke stanovení obsahu lipidů v obilce ječmene a ve sladu byla optimalizovaná moderní metoda extrakce na fluidním loži. Z vyextrahovaných lipidů bylo stanoveno zastoupení mastných kyselin v obilce ječmene a ve sladu.

Zastoupené mastné kyseliny byly stanoveny jako metyl estery připravené transesterifikační reakcí. Vzniklé estery byly separovány metodou plynové chromatografie s plamenově ionizační detekcí na kapilární koloně SLB-IL 100.

P 3**SLEDOVÁNÍ KVALITATIVNÍCH A KVANTITATIVNÍCH ZMĚN PROTEOMU JEČMENE NA ÚROVNI ODRŮDOVÝCH ROZDÍLŮ A ZMĚN V DŮSLEDKU SLADOVÁNÍ**

Flodrová D., Benkovská D., Bobálková J.

Ústav Analytické Chemie AV ČR, v. v. i., Oddělení proteomiky a glykomiky, Veveří 97, 602 00, Brno

Úvod

Pro identifikaci proteinů ječmene a sledování kvalitativních a kvantitativních změn proteinového zastoupení, v rámci odrůdových rozdílů a změn v důsledku sladování, bylo využito kombinace SDS gelové elektroforézy, kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie. Přítomnost jednotlivých ječných proteinů hraje klíčovou roli pro kvalitu sladu stejně jako i finálního piva [1]. Kromě toho, přítomnost a zastoupení jednotlivých proteinů může sloužit nejen pro rozlišování ječných odrůd, ale rovněž jako ukazatel pro kontrolu nutričních hodnot nebo pro monitorování možných ječných alergenů [2, 3].

V této práci bylo analyzováno několik sladovnických odrůd ječmene jarního, které mají široké uplatnění ve sladovnictví a pivovarnictví a patří mezi doporučené odrůdy vhodné pro výrobu „Českého piva“. Relativní kvantifikace vybraných proteinů a jejich porovnání bylo realizováno pomocí kombinace isotopového značení peptidů (iTRAQ) a hmotnostní spektrometrie. Proteiny obilky ječmene byly separovány pomocí HPLC na koloně SEC-3 a vybrané identifikované proteinové frakce (β -amylasa, β -glukosidasa) byly následně použity pro isotopové značení. V obou případech lze sledovat značný nárůst zastoupení daného proteinu v důsledku sladování.

Experimentální část***Extrakce a separace ječných proteinů***

Vodo-rozpustné proteiny získané vodnou extrakcí obilky ječmene a sladu (odrůdy– Jersey, Tolar, AF Lucius, Malz, Bojos, Blaník) byly separovány pomocí SDS-PAGE (gradientové 4 – 20 % TRIS-HCl gely). Současně byly proteinové vzorky separovány pomocí RP - HPLC (HP 1100) na koloně C18 (Poroshell 300SB-C18, 2.1 x 75mm. I.D.5 μ m).

MALDI-TOF MS identifikace

Jednotlivé proteinové frakce byly sbírány, podrobeny tryptickému digestu a pomocí MALDI-TOF MS identifikovány. Na základě integrace ploch píků bylo stanoveno a porovnáno poměrné zastoupení vybraných proteinů ve vzorcích obilky ječmene a sladu v rámci jednotlivých odrůd.

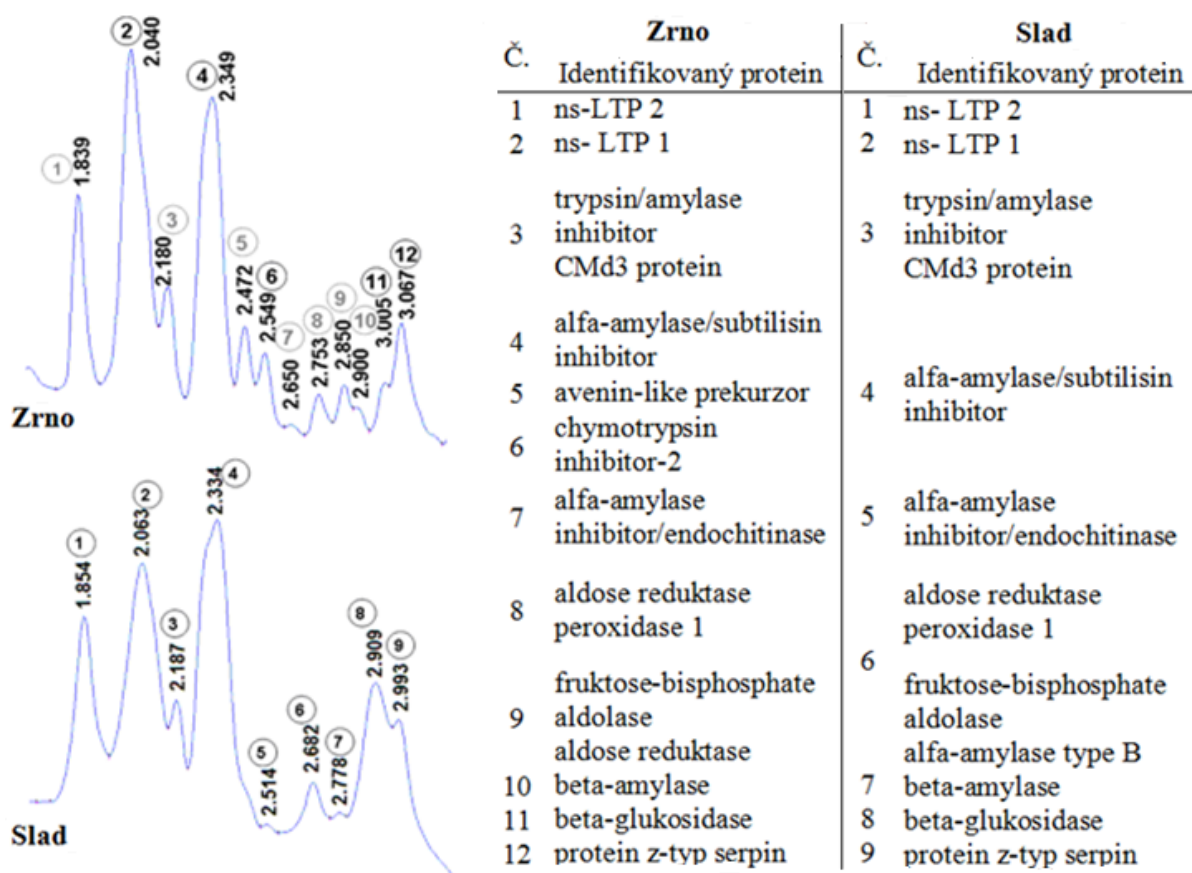
Relativní kvantifikace proteinů

Vodo-rozpustné proteiny obilky ječmene a sladu - odrůda Jersey byly separovány pomocí HPLC (HP 1100) na koloně SEC-3 (Agilent, 150 $^{\circ}$ A, 78 x 150 mm). Relativní kvantifikace vybraných proteinů byla provedena pomocí metody iTRAQ 3-Assay Duplex Trial Kit (AB Sciex).

Výsledky

Za účelem získání rychlého přehledu o proteinovém profilu jednotlivých studovaných odrůd byly vodo-rozpustné proteiny obilky ječmene a sladu separovány pomocí SDS-PAGE. Získané proteinové profily nenaznačovaly signifikantní rozdíly v kvalitativním zastoupení, naopak výsledek naznačoval spíše kvantitativní rozdíly v jednotlivých odrůdách. Z toho důvodu byla současně provedena separace proteinů pomocí kapalinové chromatografie na reverzní fázi. Změny v profilu proteinů zobrazené v chromatogramech korespondovaly s elektroforetickou separací. Ve vzorcích

obilky ječmene bylo patrné větší množství relativně úzkých píků, zatímco ve sladu se vyskytoval menší počet proteinů a záznam vykazoval širší píky (Obr.1).



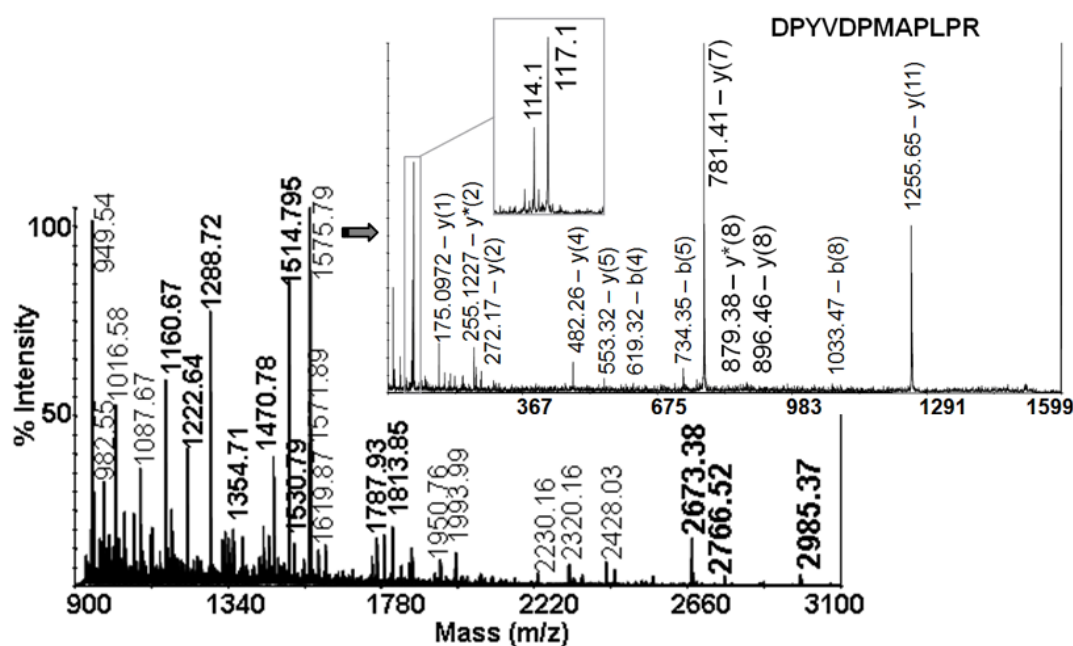
Obr.1: Příklad HPLC (C18) záznamu separace proteinových extraktů obilky ječmene a sladu (odrůda Jersey) s naznačenými proteinovými frakcemi, které byly použity pro tryptické štěpení a následnou identifikaci pomocí MALDI MS/MS. Souhrn identifikovaných proteinů nalezených ve frakcích obilky ječmene a sladu je rovněž znázorněn v Obr.1.

Pro relativní kvantifikaci vybraných proteinů v rámci ječmenného zrna a sladu (Jersey) a jejich porovnání v důsledku sladování, bylo využito spojení HPLC (gelová chromatografie), isotopového značení peptidů (iTRAQ) a hmotnostní spektrometrie. Vybrané chromatografické frakce byly podrobeny tryptickému štěpení, následnému iTRAQ značení a identifikaci získaných peptidových sekvencí pomocí MALDI MS/MS. Tabulka 1 shrnuje všechny nalezené peptidy korespondující identifikované β -amylase a β -glukosidase a jejich poměry relativního zastoupení v zrna a sladu, které byly stanoveny na základě vygenerovaných ploch píků MALDI MS/MS analýzy (Obr.2).

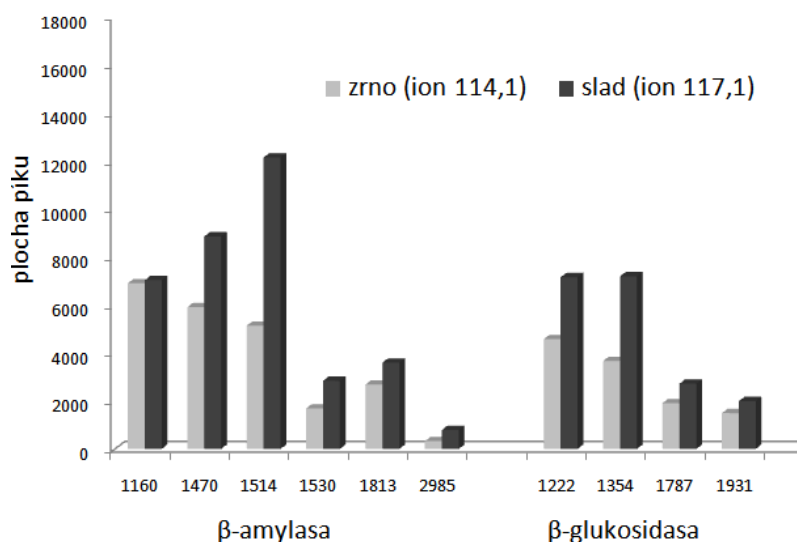
Z výsledků isotopového značení vybraných proteinů (β -amylasy i β -glukosidasy) je patrné, že v průběhu procesu sladování dochází ke značnému nárůstu zastoupení daných proteinů (Obr.3).

Tabulka 1: Souhrn identifikovaných peptidových sekvencí vybraných proteinů a jejich poměry relativního zastoupení na základě iTRAQ kvantifikace.

Protein	Experimentálně zjištěná hmotnost peptidu		Sekvence peptidu (+ modifikace)	Plocha píku		Poměr Zrno/Slad
	Neznačený vzorek	iTRAQ- značený vzorek		Ion 114	Ion 117	
β - amylasa	1016.58	1160.67	LFGFTYLR	6913	7046	0.98
	1326.67	1470.79	YCPTAYNTILR	5915	8869	0.67
	1370.69	1514.80	DPYVDPMAPLPR	5141	12169	0.42
	1386.56	1530.79	DPYVDPMAPLPR + oxidation (M)	1688	2843	0.60
	1669.75	1813.85	SAVQMYADYMTSFR	2686	3600	0.75
	2841.33	2985.36	AAAAAVGHPEWEFPN	320	790	0.41
			DVGQYNDTPER			
β- glukosidasa	1078.43	1222.64	LPGFSADES R + oxidation (M)	4579	7167	0.64
	1210.76	1354.71	NWFTFNEPR	3668	7206	0.51
	1643.32	1787.93	VVAALGYDNGFHAPG R + carbamidomethyl (C)	1910	2721	0.70
	1787.86	1931.95	DFHIGWFLDPITNGR	1492	1993	0.75



Obr.2: MS spektrum iTRAQ značených tryptických peptidů ve vzorku sladu a fragmentační MSMS spektrum peptidu m/z 1514.795 korespondující identifikované β-amylase (resp. peptidu m/z 1370.69 navýšeného o molekulovou hmotnost 144.1 Da – naznačený N-konec). Znázorněný poměr píků m/z 114.1/117.1 představuje poměr intenzit daného peptidu ve vzorcích zrna/sladu.



Obr.3: Přehled relativních zastoupení vybraných proteinů (tryptických peptidů) ve vzorcích zrna a sladu v rámci odrůdy Jersey.

Závěr

S využitím kombinace různých separačních technik (SDS-PAGE, HPLC) a hmotnostní spektrometrie jsme zmapovali proteinový profil na úrovni odrůdových rozdílů i na úrovni sledování změn v důsledku sladování. Pomocí metody isotopického značení peptidů iTRAQ byla provedena relativní kvantifikace vybraných proteinů v obilce ječmene a sladu. Výhoda iTRAQ metody spočívá zejména v tom, že během značení dochází k naznačení všech přítomných peptidů v daném komplexním vzorku, čímž je umožněna efektivnější analýza peptidů v rámci jednoho daného proteinu, včetně proteinů s post-translačními modifikacemi (např. glykosylace). Jelikož většina rostlinných alergenů přítomných v obilovinách jsou glykoproteiny, může být zmíněná metoda iTRAQ ve spojení s MALDI-TOF/TOF MS využita také při studiu glykosylovaných alergenů v obilovinách.

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektů č. 1M0570 (Výzkumného centra pro studium obsahových látek ječmene a chmele, MŠMT ČR), č. P503/12/P395 Grantové agentury ČR a Výzkumného záměru Ústavu analytické chemie, AV ČR, v.v.i., č. AV0Z40310501.

Literatura

- [1] Iimure, T.; Nankaku, N.; Hirota, N.; Zhou, T.S.; Hoki, T.; Kihara, M.; Hayashi, K.; Ito, K.; Sato, K. *Food Chem.* **2010**, 118, pp. 566–574.
- [2] Hauser, M.; Egger, M.; Wallner, M.; Wopfner, N.; Schmidt, G.; Ferreira, F. *Open Immun. J.* **2008**, 1, pp. 1–12.
- [3] Burks, W.; Sampson, H.A.; Bannon, G.A. *Allergy* **1998**, 53, pp. 725-730.

P 4**HODNOCENÍ VYBRANÝCH ODRŮD PŠENICE REOLOGICKÝMI PŘÍSTROJI**Jirsa O.¹, Kyseláková Z.², Polišenská I.¹

1) Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787/121. 767 01 Kroměříž

2) Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Zlín

Úvod

Kvalita pekárenské pšenice je souhrnem fyzikálních a chemických vlastností zrna. Mezi základní faktory ovlivňující technologickou jakost zrna pšenice jako suroviny pro potravinářskou výrobu patří odrůda. Základní užitkový směr je jejich pekárenské využití.

Těsto je komplexní směs moučných složek, vody, droždí a dalších přísad. Je základním mezistupněm při přeměně pšenice prostřednictvím mouky na pečivo. Reologické vlastnosti těsta jsou pro pekaře důležité ze dvou důvodů. Zaprvé, určují chování dílů těsta během mechanického zpracování. Zadruhé, ovlivňují kvalitu hotového pekařského výrobku [1]. Pro získání objektivních dat o pekařských vlastnostech těsta bylo vyvinuto množství přístrojů.

Cílem práce bylo: 1) hodnocení pekařské kvality vybraných odrůd pšenice ozimé třemi reologickými přístroji – farinografem, extenzografem a alveografem a 2) hodnocení závislosti mezi reologickými zkouškami a pokusným pečením.

Materiál a metody

Bylo hodnoceno 18 běžně pěstovaných odrůd pšenice ozimé jakostních tříd E, A a B ze sklizně 2010: Akteur, Bakfis, Baletka, Bardotka, Bohemia, Brilliant, Citrus, Cubus, Ebi, Eurofit, Ludwig, Magister, Meritto, Mulan, Orlando, Precioso, Potenzial, Rheia. Vzorky byly získány od firmy Agrotest fyto, s.r.o. a od firmy Oseva Ivanovice na Hané.

Mouka byla připravena na mlýně Brabender Junior. Před mletím byly pšenice nakrápěny na vlhkost 16 % s odležením do druhého dne. Analytické charakteristiky mouky byly stanoveny a) podle standardních metodik: číslo poklesu (FN) – ČSN EN ISO 3093, obsah mokrého lepku a gluten index (ICC Standard No. 155) b) na přístroji Inframatic: obsah N-látek v sušině (NL), Zelenyho test (SEDI). Reologické charakteristiky byly sledovány na farinografu (ICC Standard No. 115/1), extenzografu (ICC Standard No. 114/1) a alveografu (ICC Standard No. 121). Pekařský pokus byl proveden podle vlastní metodiky [2]. Statistická analýza se zaměřila především na porovnání ukazatelů z jednotlivých reologických přístrojů mezi sebou a ve vztahu k pokusnému pečení a byla provedena v programu Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., USA) na hladině významnosti 0,05. Vzájemný vztah mezi jednotlivými ukazateli byl hodnocen pomocí Spearmanových korelací (statisticky významné hodnoty v tabulkách jsou zvýrazněny tučně).

Výsledky a diskuse**Charakteristika odrůdových mouk**

Charakteristika celého souboru mouk je uvedena v Tab. 1. Kategorizace odrůd se nejvíce projevila v průměrném obsahu N-látek: E 13,0 %, A 12,1 % a B 10,4 %. Nejnížší FN měla odrůda Preciosa, ostatní odrůdy měly zvýšené hodnoty FN (292 s a více), nejvyšší odrůda Brilliant. Nejméně N-látek měla odrůda Meritto, nejvíce měly hned dvě odrůdy – Akteur a Ludwig. Hodnoty SEDI mokrého lepku indikují dostatek bílkovin pro kynuté pečivo. Nejnížší SEDI měla odrůda Baletka, nejvyšší odrůda Akteur. Nejnížší obsah mokrého lepku měla odrůda Ludwig, nejvyšší odrůda Orlando. Hodnoty gluten indexu se pohybovaly od 66 do 99, přičemž nejnížší hodnotu měla Rheia a nejvyšší pět odrůd – Akteur, Ebi, Ludwig, Citrus a Bardotka.

Tabulka 1: Základní statistika analytických ukazatelů mouk

Odrůda	FN (s)	Zelený (ml)	N-látky (%)	ML (%)	GI
min	210	23	10,1	21,6	66
max	449	48	13,4	34,0	99
průměr	352	35	11,9	27,9	92
medián	366	35	12,1	28,1	97
CV	15%	19%	8%	13%	12%
rel. rozpětí	68%	71%	28%	44%	36%

Porovnání reologických charakteristik odrůdových mouk

Průměrná hodnota farinografické vaznosti všech vzorků byla 60,4 %. Nejnižší vaznost vykazovala odrůda Akteur (57,8 %), nejvyšší Bohemia (64,0 %). Podle doby vývinu těsta lze posoudit sílu mouky. Silné mouky mají dobu vývinu ≥ 5 min, středně silné 2 – 3 min a slabé mouky 1 – 1,5 min. Nejvyšší hodnoty dosáhly odrůdy Brilliant (10,7 min) a Magister (9,4 min). Většina odrůd patřila do kategorie středně silných mouk. Nejkratší dobu vývinu těsta vykazovala odrůda Orlando (1,6 min). Stupeň změknutí odpovídající silným moukám (do 50 FJ) měla polovina vzorků (Akteur, Bakfis, Meritto, Rheia, Magister, Potenzial, Brilliant, Citrus a Bohemia). Nejnižší hodnoty měly odrůdy Magister (10 FJ) a Brilliant (12 FJ). Zbylé odrůdy s hodnotami v rozmezí 60 až 131 FJ (Preciosa) lze označit podle stupně změknutí za středně silné. Farinografické číslo kvality (FQN) vyjadřuje tvar farinogramu v jediném čísle – slabá mouka vykazuje nízké číslo kvality. Nejnižší hodnotu měly odrůdy Orlando (26), Cubus a Ludwig (27), nejvyšší odrůdy Magister a Potenzial (200).

Pomocí extenzografické křivky lze velmi dobře charakterizovat pekařskou kvalitu mouky a těsta. Obecně lze předpokládat, že čím vyšší je extenzografický odpor (R), tím silnější je lepek mouky, a tím pevnější a mechanicky odolnější těsto získáme. Těsta s vysokým odporem jsou příliš tuhá a v extrémních případech neumožní nakypření výrobku tlakem plynů. U těchto těst je extenzografická křivka krátká a vysoká. Obdobně, čím je vyšší extenzografická tažnost, tím tažnější a povolnější těsto získáme. V obou případech však nejsou žádoucí extrémně vysoké hodnoty. Plocha pod křivkou (energie, W_E) je považována za měřítko pekařské zpracovatelnosti těsta. Čím je energie menší, tím je těsto méně odolné a méně stabilní při zpracování. Těsto může být choulavější na přehnětí a předávkování vody. Nízkou hodnotu energie také může mít těsto z mouky s velice tuhým a krátkým lepem, který se brzy přetrhne. Takové těsto je rovněž obtížné pekařsky zpracovat a dává malý objem pečiva. U těchto těst je extenzografická křivka nízká a krátká [3]. Odrůdy s krajními hodnotami odporu – Potenzial, Citrus, Magister ($R_{\max,45} > 600$ EJ) a Ludwig, Rheia, Preciosa ($R_{\max,45} = 300 - 312$ EJ) – se vyznačovaly spíše středními hodnotami tažnosti. Naopak odrůdy s krajními hodnotami tažnosti – Akteur, Meritto, Bohemia, Bakfis ($E_{45} = 189 - 206$ mm) a Brilliant, Baletka, Orlando ($E_{45} = 105 - 119$ mm) – se vyznačovaly spíše středními hodnotami odporu. Největší hodnotu $W_{E,45}$ měla odrůda Potenzial (144 cm^2), nejnižší Orlando (50 cm^2).

Alveografická deformační energie (W_A) charakterizuje pekařskou sílu mouky. Čím je deformační energie nižší, tím je těsto méně stabilní [3]. Nejnižší hodnotu W_A měla odrůda Orlando ($127 \cdot 10^{-4}$ J), nejvyšší odrůda Bohemia ($396 \cdot 10^{-4}$ J). Průměrná hodnota W_A byla $232 \cdot 10^{-4}$ J. Pro hodnoty přtlaku (P) a délky (L) obecně platí, že je-li hodnota P nízká a zároveň hodnota L vysoká, jedná se o slabé mouky a naopak. Nejmenší poměr P/L měly odrůdy Akteur, Meritto, Rheia, Citrus a Preciosa ($\leq 1,14$), největší Baletka, Cubus, Ebi a Orlando ($\geq 3,0$).

Pokusné pečení za definovaných podmínek poskytuje nejúplnější přehled o pekařské síle mouky a dává objektivní možnost posouzení vlivu recepturních složek na charakteristiky finálního výrobku. Pro pokusné pečení musí být obecně definována receptura, použité zařízení a podmínky vedení technologického procesu. Výsledky pekařského pokusu je obtížné jednoduše kvantifikovat, pro popis se využívá více ukazatelů s různou objektivní mírou přesnosti stanovení [3]. Kromě dvou odrůd (Meritto a Rheia) mělo těsto nelepivou konzistenci. Právě tyto dvě odrůdy však měly největší

objem bochníků ($>400 \text{ cm}^3/100 \text{ g}$) a tamvou kůrku. Nejmenší objemovou hmotnost měly odrůdy Cubus, Ludwig, Eurofit a Bakfis ($<300 \text{ cm}^3/100 \text{ g}$).

Korelace mezi reologickými charakteristikami a pokusným pečením

Farinografické ukazatele korelovaly nejlépe s extenzografickou energií při srovnání s extenzografickými parametry (Tab. 2) a s alveografickou energií při srovnání s alveografickými parametry (Tab. 3). Srovnání alveografických a extenzografických ukazatelů ukázalo největší shodu při hodnocení tažnosti těsta (Tab. 4). Při predikci měrného objemu (Tab. 5 až 7) měl extenzograf nejslabší korelace, nejlépe se uplatnil ve vztahu k výšce bochníku. S některými odrůdami byly pozorovány menší odchylky při reologickém měření, např. odrůda Akteur byla silná v extenzografu a pekařském pokusu, ale méně vyhovující v alveografu a farinografickém stanovení.

Tabulka 2: Vzájemné korelace mezi farinografickými a extenzografickými (45 min) ukazateli

	W_E	R_{50}	E	$R_{\max}$	R_{50}/E	$R_{\max}/E$
Vaznost	0,209	-0,067	0,124	0,131	-0,119	-0,020
Vývin	0,581	-0,035	0,450	0,433	-0,228	-0,012
Stabilita	0,728	0,143	0,379	0,604	-0,092	0,170
SZ10	-0,804	-0,224	-0,430	-0,664	0,051	-0,232
SZ12	-0,777	-0,426	-0,263	-0,785	-0,170	-0,430
FQN	0,710	0,095	0,412	0,563	-0,138	0,133

Tabulka 3: Vzájemné korelace mezi farinografickými a alveografickými ukazateli

	P	L	W_A	P/L
Vaznost	0,422	0,356	0,482	-0,115
Vývin	0,285	0,499	0,729	-0,310
Stabilita	0,313	0,488	0,750	-0,311
SZ10	-0,331	-0,521	-0,763	0,307
SZ12	-0,373	-0,362	-0,647	0,174
FQN	0,392	0,521	0,771	-0,312

Tabulka 4: Vzájemné korelace mezi extenzografickými (45 min) a alveografickými ukazateli

	P	L	W_A	P/L
W_E	0,139	0,587	0,765	-0,449
R_{50}	0,529	-0,447	-0,108	0,556
E	-0,461	0,811	0,586	-0,821
$R_{\max}$	0,428	0,127	0,459	0,042
R_{50}/E	0,478	-0,643	-0,354	0,695
$R_{\max}/E$	0,542	-0,356	0,001	0,488

Tabulka 5: Vzájemné korelace mezi farinografickými ukazateli a pokusným pečením

	V	m	výška	šířka	Mo	v/š
Vaznost	0,413	0,018	-0,056	0,600	0,377	-0,300
Vývin	0,665	-0,065	0,152	0,483	0,600	-0,122
Stabilita	0,512	0,080	0,054	0,308	0,406	-0,131
SZ10	-0,533	-0,043	-0,019	-0,253	-0,424	0,162
SZ12	-0,496	0,026	-0,002	-0,188	-0,401	0,154
FQN	0,563	-0,019	-0,077	0,438	0,493	-0,299

Tabulka 6: Vzájemné korelace mezi extenzografickými (45 min) ukazateli a pokusným pečením

	V	m	výška	šířka	Mo	v/š
W	0,428	0,132	-0,047	0,136	0,292	-0,146
R ₅₀	-0,056	-0,049	-0,219	-0,107	-0,104	-0,193
E	0,429	0,088	0,264	0,164	0,361	0,148
R _{max}	0,349	0,010	-0,192	0,132	0,232	-0,284
R ₅₀ /E	-0,152	-0,159	-0,273	-0,084	-0,146	-0,228
R _{max} /E	0,010	-0,155	-0,422	0,008	-0,030	-0,412

Tabulka 7: Vzájemné korelace mezi alveografickými ukazateli a pokusným pečením

	V	m	výška	šířka	Mo	v/š
P	-0,114	0,206	-0,260	-0,020	-0,179	-0,249
L	0,528	-0,077	0,035	0,392	0,501	-0,135
W _A	0,421	0,080	-0,130	0,280	0,344	-0,263
P/L	-0,411	0,099	-0,079	-0,291	-0,418	0,046

Závěr

Farinografické ukazatele korelovaly nejlépe s extenzografickou energií při srovnání s extenzografickými parametry a s alveografickou energií při srovnání s alveografickými parametry. Srovnání alveografických a extenzografických ukazatelů ukázalo největší shodu při hodnocení tažnosti těsta. S objemem výrobku nejlépe korelovaly farinografické ukazatele, nejméně extenzografické ukazatele. Reologické ukazatele kvality (zejména mechanická odolnost) korelovaly s analytickými ukazateli bílkovin, především s obsahem mokrého lepku.

Použitá literatura

- [1] Bloksma AH, Bushuk W (1988). Rheology and chemistry of dough. In. Pomeranz Y (ed). Wheat – Chemistry and technology – Volume II. AACC, Inc., St. Paul, MN, USA. Third edition. ISBN 0-913250-73-2.
- [2] Kyseláková Z (2011). Hodnocení kvality vybraných odrůd pšenice ozimé na základě reologických analýz. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická.
- [3] Příhoda J, Hrušková M (2007). Mlynářská technologie (svazek 1) Hodnocení kvality. Praha: Svaz průmyslových mlýnů České republiky, 187 s. ISBN 978-80-239-9475-9

Tato práce vznikla s využitím poskytnuté institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace, Rozhodnutí MZe ČR č. RO0211 ze dne 28.2.2011 a MSM2532885901.

P 5**HODNOCENÍ NETRADIČNÍCH GENOTYPŮ PŠENICE A JEČMENE PRO POTRAVINÁŘSKÉ VYUŽITÍ**Jirsa O.¹, Vaculová K.¹, Martinek P.¹, Stehno Z.², Laknerová I.³

3) Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787/121, 767 01 Kroměříž

4) Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha

5) Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.

Úvod

Pšeničného těsto má jedinečné viskoelastické chování odlišné od těst jiných obilovin, což vedlo k produkci velkého rozsahu potravin (Uthayakumaran a Wrigley, 2010). Orientace spotřebitelů a výrobců na bílou mouku z vybraných kultivarů pšenice obecně však vedlo ke snížení příjmu vitaminů a minerálních látek. Obohacování pšeničného pečiva látkami s ochranným účinkem na zdraví člověka přidáváním jiných surovin, zvláště minoritních nebo málo využívaných obilovin s vysokým obsahem vlákniny, vitaminů, antioxidantů a jiných bioaktivních sloučenin je často omezeno jejich nežádoucími technologickými vlastnostmi. V této práci jsme zjišťovali základní chemické složení a technologické vlastnosti genotypů pšenice a ječmene, pěstovaných na dvou stanovištích (Kroměříž, Praha) v roce 2011.

Materiál a metody

Bylo vybráno pět materiálů na základě jejich specifických nutričních přínosů: Citrus – odrůda ozimé pšenice s tvrdým žlutým endospermem a vysokým obsahem celkových karotenoidů a kyseliny panthotenové, RU 440-6 – ozimá pšenice s modrým aleuronem, a vysokým obsahem celkových polyfenolů a vitamínu B2 (Laknerová et al., 2010), ANK 28B – jarní pšenice s purpurovým perikarpem, AF Lucius – odrůda bezpluchého jarního ječmene s vysokým obsahem celkových karotenoidů a KM 1057 – nová linie bezpluchého jarního ječmene s vysokým obsahem esenciálních aminokyselin a vitaminů skupiny E a B. Vybrané genetické zdroje byly pěstovány standardní pěstební technologií v polních podmínkách lokality Kroměříž a Praha ve sklizňovém roce 2011.

Šrot pro chemické a technologické analýzy byl získán na laboratorním mlýnku Perten Laboratory Mill 3100, mouka byla připravena na laboratorním mlýnu Brabender Junior. Zrno bylo hodnoceno objemovou hmotností (OH v $\text{kg}\cdot\text{hl}^{-1}$ – ČSN ISO 7971-2). V celozrnném šrotu byl stanoven obsah minerálních makroprvků (P – spektrofotometricky, K, Ca – plamenovou AAS podle Zbíral et al. 2005), škrobu (ČSN EN ISO 10520), N-látek (ICC Standard No. 167 – pšenice N×5,7, ječmen N×6,25), obsah β -glukanů (kitem fy Megazyme – KBGLU 04/06), v pšenici obsah mokrého lepku v sušině (v % v suš.) a hodnoty gluten indexu (GI podle ICC Standard No. 155).

Reologické vlastnosti byly hodnoceny na farinografu (ICC Standard No. 115/1) při zadělání mouky vodou na konzistenci 500 FJ (FJ – farinografická jednotka) a extensografu (ICC Standard No. 114/1).

Statistické vyhodnocení bylo provedeno v programu Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., USA) na hladině významnosti 0,05.

Výsledky a diskuse

Hodnoty chemických a technologických ukazatelů jsou uvedeny v Tab. 1. Průměrné chemické složení zrna pšenice a ječmene se, obdobně jak uvádějí Vaculová et al. (2010), až na obsah β -glukanů, mezi genotypy výrazně nelišilo. Vzorky pšenice i ječmene měly středně vysoký obsah bílkovin. Obsah škrobu byl nejvyšší u odrůdy pšenice Citrus, které se přibližovala odrůda bezpluchého ječmene AF Lucius. Nejvýraznější odlišností vzorků ječmene oproti pšenici je vysoký obsah β -glukanů, které tvoří hlavní stavební látku buněčných stěn ječmene. Nejvyšší průměrný obsah β -glukanů měl genotyp AF Lucius. Obsah škrobu ani β -glukanů se významně nelišil mezi stanovišti. Obsah prvků fosforu, draslíku a hořčíku byl vyšší na lokalitě Kroměříž, obsah vápníku

naopak v Praze. V součtu obou lokalit měl nejvyšší obsah minerálů (P, K, Ca, Mg) KM 1057. Objemová hmotnost, jako jeden z ukazatelů mlýnské kvality, byla u hodnocených genetických zdrojů pšenice rozdílná v obou lokalitách. V Kroměříži poměrně nízká a pod minimální hodnotou požadovanou pro potravinářskou pšenici (76,0 kg/hl) podle ČSN 46 1100-2, v Praze o 5 až 13 % vyšší.

Hlavní odlišností pšenice oproti jiným obilninám je přítomnost zásobních bílkovin, které se během hnětení těsta přetvářejí v lepek. Jeho obsah a kvalita nejvýznamněji ovlivňují viskoelastické vlastnosti pšeničného těsta, a tím rozhodují o vhodnosti dané pšenice na výrobu kynutých pečárenských nebo nekynutých pečivářských výrobků. K významným technologickým ukazatelům pšenice proto patří hodnocení obsahu mokrého lepku a jeho kvality. Pro orientační zkoušku kvality lepku mohou dobře posloužit hodnoty Gluten indexu. Nejnižší obsah lepku měla odrůda Citrus, ovšem hodnoty GI se ukázaly na velmi silný lepek. Vyšší obsah středně silného lepku byl stanoven v pšenici RU 440-6 a ANK 28B. Rozdílly jsou i mezi lokalitami – vyšší obsah, ale slabšího lepku byl v Praze. Zásobní bílkoviny ječmene (hordein) hnětením nevytvářejí lepek, a proto výše uvedené ukazatele nemohou být u ječmene hodnoceny.

Tab. 1 Chemické analýzy a technologické ukazatele pšenice a ječmene ze sklizně 2011

Označení	Lokalita	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Škrob (%)	BG (%)	OH (kg/hl)	M. lepek (%)	GI
RU 440-6	KM	2,07	0,367	0,388	0,056	0,116	62,7	0,6	73,7	31,5	78
Citrus	KM	2,11	0,398	0,446	0,065	0,146	68,3	0,7	74,7	28,6	96
ANK 28B	KM	2,58	0,443	0,357	0,050	0,132	62,8	0,7	73,8	36,1	71
KM 1057	KM	2,48	0,507	0,408	0,043	0,119	59,3	2,7	68,4	***	***
AF Lucius	KM	2,25	0,438	0,419	0,035	0,108	66,1	3,9	72,9	***	***
RU 440-6	Praha	2,40	0,324	0,316	0,061	0,109	62,7	0,5	77,5	40,2	49
Citrus	Praha	1,91	0,267	0,286	0,056	0,093	71,1	0,6	81,1	28,0	87
ANK 28B	Praha	2,53	0,367	0,278	0,071	0,118	64,0	0,8	83,2	40,0	55
KM 1057	Praha	2,57	0,479	0,355	0,065	0,110	58,0	2,7	71,0	***	***
AF Lucius	Praha	2,22	0,374	0,325	0,050	0,105	66,5	3,9	82,6	***	***

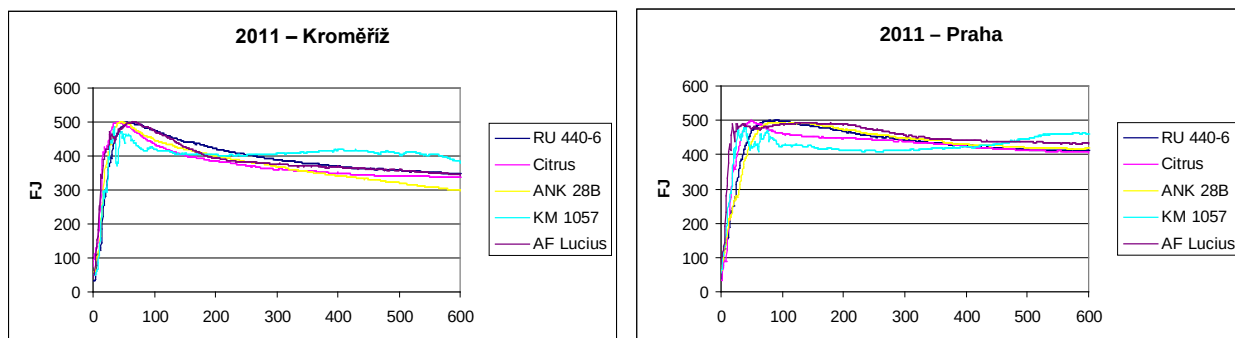
% jsou vztažena na sušinu

Reologické vlastnosti pšeničného těsta, zejména pružnost, tažnost a stabilita, ovlivňují výrobní operace v pekárnách a mají významný vliv na spotřebitelskou kvalitu pečářských výrobků. K základnímu vyhodnocení reologických vlastností se používá přístroj farinograf, který simuluje proces hnětení těsta. Při standardní zkoušce se sleduje chování těsta připraveného z mouky a vody na konzistenci 500 FJ. V případě vzorků pšenice korespondovaly dosažené výsledky s obecně známými vztahy a závislostmi, platnými pro běžné odrůdy pšenice seté. Na průběhu farinogramů (Obr. 1) se projevil vliv odrůdy i lokality. Výsledky (Tab. 2) ukázaly vyšší stupeň změknutí těsta během hnětení u vzorků z lokality Kroměříž, které měly také srovnatelný průběh křivek. Větší rozdíly mezi materiály se projeví u vzorků z Prahy, pečářsky nejsilnější mouku v celém souboru měla odrůda ANK 28B. Pšeničné mouky z lokality Praha lze považovat za pečářsky silné, z lokality Kroměříž za středně silné. Reologické vlastnosti těsta z ječné mouky byly hodnoceny stejnou metodikou se zaděláním na konzistenci 500 FJ. Vzhledem k odlišnému složení zásobních bílkovin ječmene však nelze jejich pečářskou kvalitu přímo srovnávat s pšeničnými moukami. Zatímco farinogram ječné mouky AF Lucius se podobá pšeničným, farinogram KM 1057 má odlišný průběh – bylo obtížné dosáhnout požadované konzistence. Zde se více projeví rozdílné charakteristiky ječné mouky, tj. absence lepku a rozdílné zastoupení neškrobových polysacharidů, které se významně podílejí na formování struktury těsta. U linie ječmene KM 1057 byla také pozorována nejvyšší vaznost.

Tab. 2 Farinografické hodnocení

Označení	Lokalita	Vaznost (%)	Vývin (min)	Stabilita (min)	SZ (FJ)	SZ (ICC) (FJ)	FQN
RU 440-6	KM	58,5	2,1	1,7	112	135	37
Citrus	KM	55,4	1,4	1,2	140	152	24
ANK 28B	KM	59,2	1,6	1,3	132	161	26
KM 1057	KM	67,8	1,4	0,7	93	83	13
AF Lucius	KM	56,5	1,9	1,6	126	133	34
RU 440-6	Praha	61,9	3,2	4,0	58	81	64
Citrus	Praha	56,3	1,7	1,4	63	79	28
ANK 28B	Praha	67,1	5,4	6,9	20	35	128
KM 1057	Praha	64,5	1,2	0,4	87	79	13
AF Lucius	Praha	58,0	2,8	3,2	43	59	54

FJ – farinografická jednotka



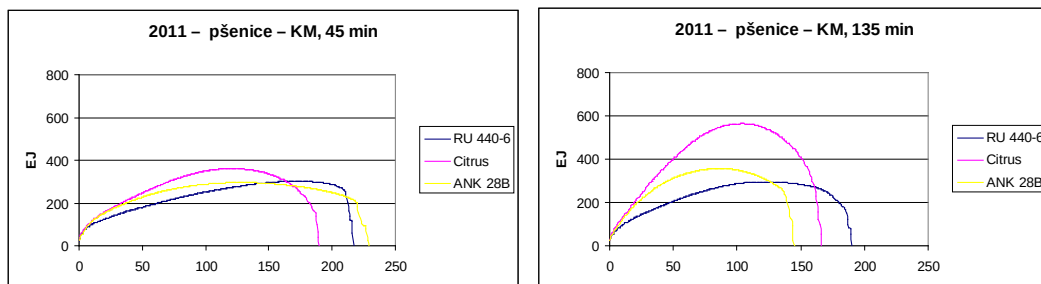
Obr. 1 Porovnání farinografických křivek z obou lokalit

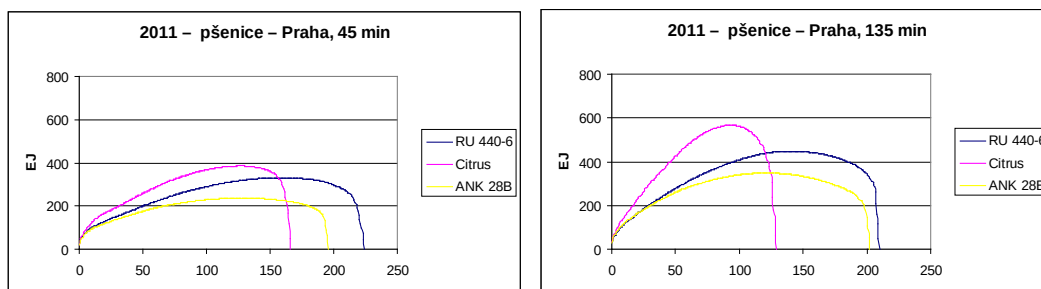
Reologické chování těsta ve fázi odležení bylo hodnoceno pomocí extensografu ve třech intervalech (45, 90 a 135 min) a výsledky jsou uvedeny v Tab. 3. Vliv doby odležení se projevil především v případě mouky ze vzorku odrůdy Citrus, a to posílením struktury těsta, které vedlo ke snížení tažnosti a zvýšení odporu (Obr. 2).

Tab. 3 Extensografické hodnocení

Označení	Lokalita	Energie (cm ²)			Tažnost (mm)			Max. odpor (EJ)			Max. odpor/tažnost		
		89	102	77	217	237	190	300	325	295	1,4	1,4	1,6
RU 440-6	KM	89	102	77	217	237	190	300	325	295	1,4	1,4	1,6
Citrus	KM	92	120	115	190	167	160	360	565	585	1,9	3,4	3,7
ANK 28B	KM	98	92	71	229	177	145	295	365	355	1,3	2,1	2,5
RU 440-6	Praha	101	122	127	224	213	210	330	415	450	1,5	1,9	2,1
Citrus	Praha	86	99	93	167	142	129	385	540	565	2,3	3,8	4,4
ANK 28B	Praha	66	79	99	196	176	203	235	320	350	1,2	1,8	1,7

EJ – extenzografická jednotka





Obr. 2 Porovnání extenzografických křivek z obou lokalit

Závěr

Výsledky hodnocení vybraných genotypů pšenice s netradičním zabarvením zrna a bezpluchého ječmene, určených pro vývoj nových potravinářských výrobků s vyšším zdravotním přínosem, ukázaly jejich chemické složení a fyzikální charakteristiky. S výjimkou obsahu β -glukanů nebyly pozorovány významné rozdíly v chemickém složení zrna (obsah makroprvků, obsah bílkovin, škrobu). Reologické vlastnosti těsta z mouky a krupice měřené na farinografu a extenzografu ukázaly rozdílné pekařské charakteristiky během hnětení a odležení těsta, s významným vlivem lokality. Hodnocené genotypy pšenice a ječmene skýtají různé možnosti uplatnění pro pekařské a pečivářské výrobky s příznivým nutričním složením. Jejich zpracovatelské charakteristiky však také ovlivňují možnosti výroby a vlastnosti konečných výrobků.

Použitá literatura

Laknerová I., Mašková E., Holasová M., Fiedlerová V., Gabrovská D., Winterová R., Vaculová K., Martinek P., Stehno Z., Ehrenbergerová J. (2010): Kvalitativní hodnocení netradičních forem pšenice pro potravinářské využití. Úroda 12, 2010, vědecká příloha, s. 653 – 656, ISSN: 0139-6013

Uthayakumaran S., Wrigley C. W. (2010): Wheat: characteristics and quality requirements. In: Wrigley C. W. a Batey I. L. (eds.). Cereal Grains – assessing and managing quality. 1. vydání, Woodhead Publishing Limited, UK. ISBN 978-84569-563-7.

Vaculová K., Jirsa O., Martinek P., Balounová K. (2010): Hodnocení kvality zrna vybraných vzorků netradiční pšenice a bezpluchého ječmene. Obilnářské listy XVIII, 3, 2010:71-77, ISSN 1212-138X.

Výzkum byl finančně podpořen z Ministerstva zemědělství České republiky v rámci projektu QI91B095 a použitím institucionální podpory pro dlouhodobý rozvoj výzkumných organizací, Rozhodnutí Ministerstva zemědělství České republiky č. RO0211 ze dne 28. února 2011.

P 6**ENZYMY V PEKÁRENSKÉ TECHNOLOGII A JEJICH VYUŽITÍ**

Ošťádalová M., Malá L., Čáslavková P., Eliášová M., Tremlová B., Tauferová A.

Ústav vegetabilních potravin, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Stejně jako v každém potravinářském odvětví i pekařský průmysl se neustále vyvíjí nové technologie, pro ulehčení nejen samotné výroby, ale zejména zlepšení senzorických vlastností finálních výrobků.

V pekárenském průmyslu se poslední dobou významně rozšířilo používání enzymových preparátů. Enzymy jsou bílkovinné katalyzátory urychlující, spouštějící a upravující při teplotách kynutí chemické reakce.

Cílem příspěvku je vytvoření přehledu enzymatických přípravků, jejich vlastností a využití v praxi.

K nejpoužívanějším enzymům v pekárenské technologii patří enzymy amylolytické, proteolytické, lipolytické, fosfolipázy, hemicelulosity, celulózy, glukosooxidázy. Tyto enzymy se dávkuje v různém množství a poměru v jednotkách mg/kg mouky. Pro přehlednost jsou jednotlivé druhy enzymů uvedeny v tabulce č. 1.

Tabulka č.1 Přehled vybraných enzymů používaných v pekárenském průmyslu

ENZYM	ENZYM
Amylázy • plísňová amyláza • maltózová amyláza • bakteriální amyláza	Fosfolipázy • pro pekařské účely • pro sladká pečiva
Proteázy • bakteriální amyláza • plísňová amyláza	Hemicelulázy • plísňová hemicelulóza • bakteriální hemicelulóza
Lipázy • bakteriální lipáza	Glukosooxidázy • plísňová glukosooxidáza

AMYLÁZY

Amylázy štěpí škrob v určité části jeho řetězce (jednoduché cukry). V pekárenském průmyslu se nejčastěji využívá plísňová amyláza (produkovaná kmenem *Aspergillus oryzae*), maltózová amyláza (produkovaná kmenem *Rhizopus oryzae* a bakteriální amyláza produkovaná kmenem *Bacillus amyloliquefaciens*).

Amylázy se všeobecně podílí na zlepšení textury, pružnosti a rovnoměrnosti střídy pečiva a navíc prodlužují jeho trvanlivost.

PROTEÁZY

Proteázy jsou enzymy, které štěpí bílkoviny až na aminokyseliny. Ze skupiny proteáz se pro pekárenské účely používají bakteriální proteáza (produkovaná kmenem *Bacillus amyloliquefaciens*) a plísňová proteáza (produkovaná kmenem *Aspergillus oryzae*).

Tyto enzymy se používají na zlepšení reologických vlastností pečiva běžného a trvanlivého. Bakteriální proteáza se využívá zejména při výrobě trvanlivého pečiva. Z ekonomického hlediska

mají význam ve zvyšování absorpce vody, snížení spotřeby tuku při výrobě a zejména zkracování doby kynutí u těst kypřených droždím. Významně se podílí na snižování objemové hmotnosti trvanlivého pečiva po upečení a redukuje použití siřičitanu sodného. Plísňová protéza se využívá zejména při výrobě běžného pečiva. Díky její schopnosti zadržet kvasné plyny v těstě a zvýšení tažnosti těsta, zlepšuje texturní vlastnosti střídy a zvýrazňuje chuť a vůni výrobku.

LIPÁZY

Lipázy jsou produkovány kmenem *Rhizopus oryzae*. Štěpí tuky až na monoglyceridy a mastné kyseliny. V pekárenském průmyslu se používají pro posílení lepku a tak zvýšení tažnosti těsta. Zlepšují tak pružnost a strukturu střídy, zvyšují její bělost a prodlužují trvanlivost (zpomalují tvrdnutí) pečiva.

FOSFOLIPÁZY

Fosfolipázy se využívají jednak pro při výrobě běžného pečiva, tak i při výrobě pečiva sladkého. Přídavek fosfolipáz snižuje množství přidávaných surovin, jako jsou emulgátory, vaječná hmota, apod. Posílí se na zvyšování objemu pečiva po upečení, zvýšení měkkosti a struktury střídy.

HEMICELULÁZY

Hemicelulázy se podílí na štěpení polysacharidových jednotek za vzniku pentosanů. V pekárenském průmyslu se používá Plísňová hemicelulóza (produkována kmenem *Trichoderma viride*) a bakteriální hemicelulóza (produkována kmenem *Bacillus subtilis*). Hemicelulázy se podílí na zlepšení vaznosti vody, odolnosti těsta a jeho stability při kynutí a zlepšují růst objemu při pečení. Vytváří tak pečiva s vysokými objemy, měkké, elastické a jemné struktury střídy.

CELULÁZY

Celulázy jsou produkovány kmenem *Trichoderma reesei* a *Trichoderma longibrachiatum*. Napomáhají degradaci celulózy a dalších hemicelulóz. Zlepšují tak tažnost lepku, odolnost těsta a stabilitu při kynutí, růst objemu v peci a objem pečiva a strukturu a pružnost střídy.

GLUKOSOOXIDÁZY

Glukooxidázy jsou enzymy, které mají oxidační účinky. Jsou produkovány kmenem *Aspergillus niger*. Používají se pro snížení přídavku chemických ingrediencí (guarová guma, kyselina askorbová, bromičnan, apod.). Zlepšují absorpci vody a pevnost a stabilitu těsta. Podílí se na zlepšení křupavosti kůrky a tvaru pečiva

Literatura:

American Bakers Association. *Baking Technology*. General Books, 2012. 436 p. ISBN: 1130613038.

Dendy D.A.V., Dobraszczyk B.J. *Cereals and Cereal Products*. Gaithersburg: Aspen Publishers, MD. 2001, p. 140-181.

Kučerová, J. *Technologie cereálií*. Brno: MZLU. 2004, 141 s. ISBN: 80-7157-811-8.

Young L.S., Cauvain, S.P. *Inside Bakery Texture. The World of Food Ingredients*.

Příhoda, J., Humpolíková, P., Novotná, D. *Základy pekárenské technologie*. Praha: Pekař a cukrář s.r.o. 2003, 363 s. ISBN: 80-902922-1-6.

Scanlon, M.G., Zghal, M.C. Bread properties and crumb structure, *Food Research International*, 2001, vol. 34, p. 841-864.

Tato práce vytvořena v rámci projektu IGA č. 17/2012/FVHE.

P 7**HODNOCENÍ KVALITY BÍLKOVINNÉHO KOMPLEXU VYBRANÝCH ODRŮD PŠENICE PRO PEKÁRENSKÉ A PEČIVÁRENSKÉ VYUŽITÍ**Homola, L.¹, Hřivná, L.¹, Kotková, B.¹¹-Ústav technologie potravin, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1665/1, 613 00**ABSTRAKT**

Základem pro řešení tohoto projektu byl soubor vybraných vzorků pšenice ozimé o různé technologické kvalitě pěstované ve dvou odlišných pěstitelských podmínkách. U tohoto souboru byly sledovány vlivy ročníku, lokality a skupin odrůd dle pekařské kvality (E,A,B,C) na parametry zrna a jeho bílkovinný profil. Dále byly získány vzorky zrna pšenice, hnojené během vegetace diferencovaně dusíkem a sírou. U těchto vzorků byl rovněž stanoven bílkovinný profil a provedena detailní frakcionace gliadinové frakce na jednotlivé subfrakce (α , β , γ , ω). Toto hodnocení bylo provedeno ve třech frakcích mletí zrna – mouka, krupice a otruby.

Výsledkem je souhrn údajů o bílkovinném profilu jednotlivých frakcí meliva zrna pšenice ozimé s odlišnou technologickou kvalitou. Dále byly získány informace o vlivu aplikace síry na změny bílkovinného složení zrna pšenice. Výsledná data byla a budou podkladem pro vědecké publikace.

V rámci tohoto projektu se podařilo při analýze vzorků pšenice najít a aplikovat metodu vhodnou pro měření bílkovinných frakcí zrna pšenice. Metoda, která byla použita se ukázala být vhodnou také pro stanovení detailní frakcionace gliadinového komplexu, tato metoda, především část týkající se vyhodnocení naměřených dat se ještě dopracovává. Byl potvrzen vliv ročníku a lokality na zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí, nepotvrdil se výraznější vliv kvalitativní skupiny, což bylo zřejmě ovlivněno extrémně vysokými výnosy a minimálními výnosovými rozdíly mezi jednotlivými kvalitativně odlišnými skupinami pšenic. Negativně se zřejmě odrazila i nízká dávka N neodpovídající dosahovaným výnosům zrna. Potvrdilo se rozdílné složení bílkovinného komplexu v otrubách oproti ostatním frakcím (mouka, krupice). Byl prokázán vliv aplikace síry na bílkovinný komplex pšenice. V neposlední řadě byla získána data, která budou dále rozpracována a využita pro další vědeckou činnost.

Klíčová slova: pšenice ozimá, bílkovinný komplex, frakce meliva, gliadiny

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky pšenice pochází z odrůdových pokusů založených na lokalitě ŠZP Žabčice ze sklizně roku 2009 a 2010. Pro vlastní analýzu bylo vybráno 16 odrůd pšenice. A to vždy 4 odrůdy z každé kvalitativní skupiny - E, A, B, C. Každá z odrůd pak byla pěstována na dvou vláhově odlišných stanovištích. Stanoviště Obora se vyznačovalo dobrými vláhovými podmínkami a stanoviště Pisky pak je považováno za stanoviště velmi suché. Pěstitelská technologie na obou stanovištích byla shodná, dávka dusíku za vegetaci představovala 150 kg.N.ha⁻¹. Porosty byly vždy sklizeny v plné zralosti.

Maloparcelní pokus, ve kterém byl hodnocen vliv aplikované S a N na bílkovinný profil zrna pšenice odrůdy Mulan (A), probíhal v roce 2010/2011 na lokalitě ve Velké Bystřici u Olomouce. Pšenice byla zaseta 7.10.2010 po předplodině ozimé řepce, výsevek činil 4MKS. Schéma pokusu je uvedeno níže (tab.1):

Va r.	Schéma pokusu	Termín aplikace a dávka (kgN + l Thiotrac)				Celkem kg/ha		
		Regenerace1B	1.prod	2.prod	kvalita	N	S-Sulfan	S-Thiotrac
1	LAV	40	30	30	20	174		
2	YARA Sulfan	40	30	30	20	174	30	
3	LAV+ Thiotrac	40	30/5 l	30	20	174		1,5
4	YARA Sulfan+ Thiotrac	40	30/5 l	30	20	174	30	1,5
5	LAV+ Thiotrac	40	30	30	20/5 l	174		1,5
6	YARA Sulfan+ Thiotrac	40	30	30	20/5 l	174	30	1,5

Poznámka: Porost byl plošně vyhnojen dusíkem v rámci 1A regeneračního hnojení dávkou 54kgN/LAV/ha (25.2.2011), tato dávka není v tabulce uvedena, celkový součet N a S (viz. poslední sloupec tabulky) s ní již ale počítá. Každá varianta měla 4 opakování

U vzorků zrna z lokality Žabčice i Velká Bystřice byly stanoveny parametry mlynářské a pekařské jakosti. Pro stanovení bílkovinného profilu bylo zrna pomlety na laboratorním mlýnu fy Chopin na frakci mouka, krupice a otruby. U těchto frakcí meliva byl následně stanoven jeho bílkovinný profil i zastoupení jednotlivých subtraktů gliadinů.

Příprava vzorků pšenice pro HPLC

Získané vzorky pšenice o známé jakosti byly na laboratorním mlýnku SHOPIN rozemlety a rozděleny na tři frakce: mouku, krupici a otruby. Z každého vzorku se následně odebralo množství 200 mg, které se rozpustilo ve 3 ml připraveného extrakčního činidla (H_2O + Acetonitril v poměru 3:1). Vzorek se následně třepal na vortexové třepačce po dobu 5 minut. Poté se odstředily při 10 000 ot./min. po dobu 10 minut. Takto odstředěný vzorek se pipetoval do označené vialky. Všechny vzorky byly připraveny najednou a změřeny v průběhu následujících 72 hodin. Takto se připravovaly vzorky pro stanovení komplexního přehledu frakcí bílkovin v zrna pšenice.

Příprava vzorků pro detailní stanovení gliadinových frakcí probíhala obdobně, s výjimkou použití vhodného extrakčního činidla z důvodu eliminace ostatních frakcí bílkovin. Tímto rozpouštědlem byl 50% n-propanol.

Podmínky měření komplexního zastoupení bílkovinných frakcí

Izokratický režim, průtok 0,4ml/min., detekce UV při 214 nm.

Extrakční činidlo : H_2O : ACN (3:1)

Mobilní fáze : dvousložková - ACN + 0,1% TFA

- H_2O + 5 % ACN + 0,1 % TFA,

Použitý gradient : 20:80-45:55-20:80

Podmínky měření gliadinových frakcí

Izokratický režim, průtok 0,4ml/min., detekce UV při 210 nm.

Extrakční činidlo : 50% n-propanol

Mobilní fáze : dvousložková - ACN + 0,1% TFA

- H_2O + 5 % ACN + 0,1 % TFA,

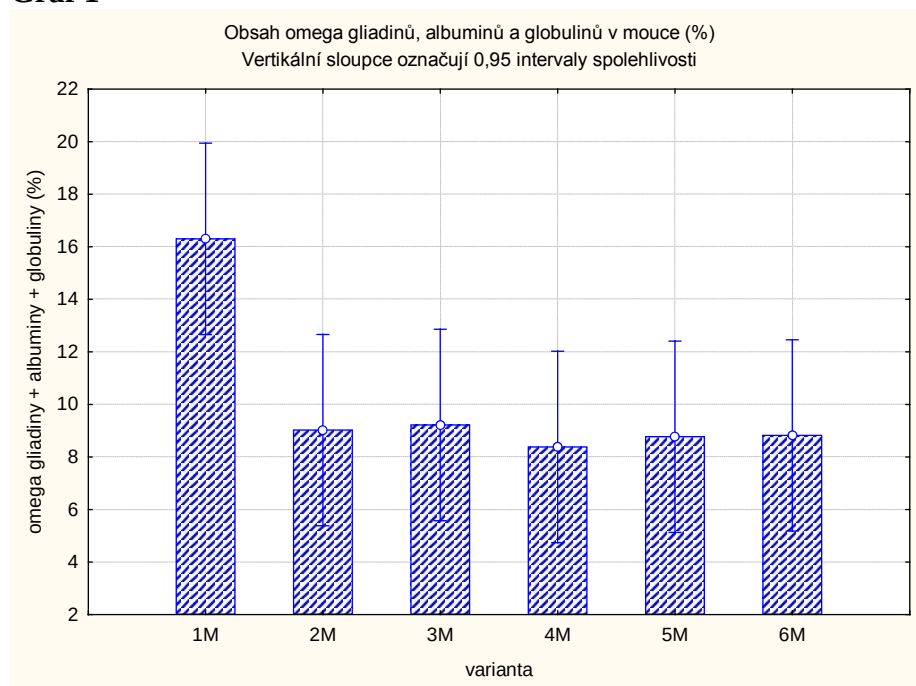
Použitý gradient : 25:75-47:53-25:75

VÝSLEDKY A DISKUZE

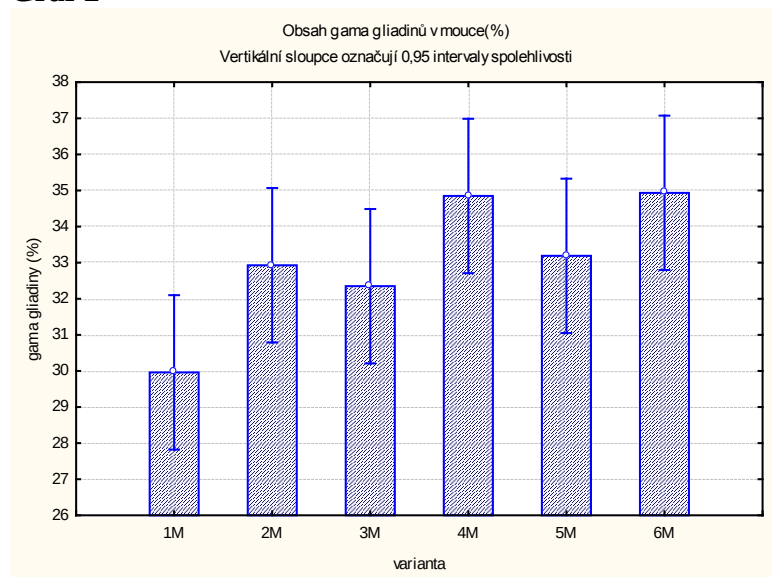
Maloparcelní pokus – hodnocení hnojení N a S během vegetace (lokalita Velká Bystřice)

V grafech 1-2 je uvedeno zastoupení bílkovinných frakcí u jednotlivých variant pokusu. Graf 1 ukazuje, že hodnota skupiny omega gliadinů, albuminů a globulinů byla u kontrolní varianty č.1 téměř dvakrát vyšší než u ostatních, sírou hnojených variant. Tato první skupina bílkovinných frakcí je z technologického hlediska nejméně významná a z tohoto pohledu můžeme usuzovat, že přihnojení sírou v průběhu vegetace je pro technologickou jakost výsledného produktu pozitivní. Naopak zbylé 4 bílkovinné frakce jsou u většiny „sírných“ variant výrazněji zastoupeny, což lze pozorovat v grafu 2. Za cenné můžeme považovat zvýšené zastoupení vysokomolekulárních podjednotek gluteninů a γ -gliadinů.

Graf 1



Graf 2

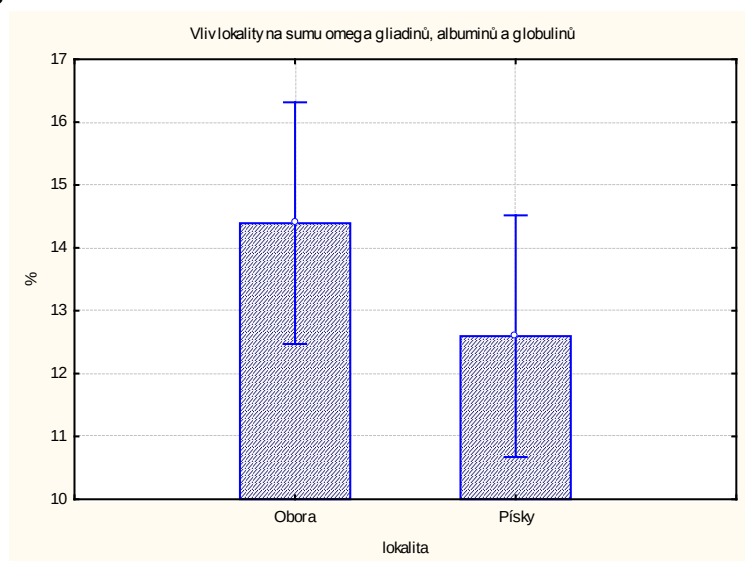


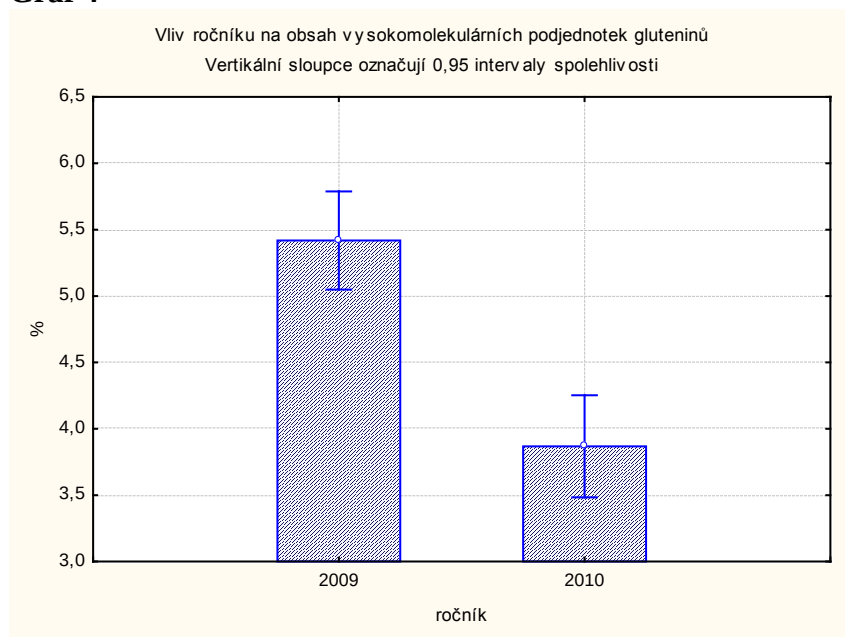
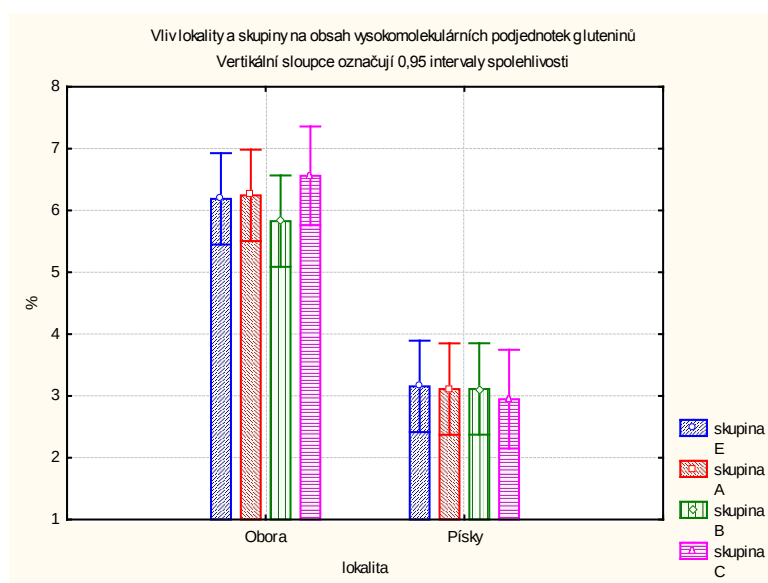
Maloparcelní pokus – bílkovinný komplex (lokalita Žabčice-Obora, Písky)

Jak již bylo uvedeno výše, byly zde hodnoceny vzorky ze sklizně 2009 a 2010. Celkem se jednalo o 186 jednotlivých dílčích stanovení. U těchto vzorků bylo provedeno hodnocení vlivu lokality, ročníku a technologické skupiny pšenice na bílkovinný profil. Každá z lokalit (Obora,

Písky) má jinou charakteristiku půdy, lokalita Písky je výrazně sušší než lokalita Obora. V souvislosti s tím je patrný nižší obsah sumy omega gliadinů, albuminů a globulinů v lokalitě Písky než v lokalitě Obora (graf 3). Prakticky bez vlivu byl ročník na sumu gliadinů, albuminů a globulinů a na frakci gama gliadinů. Naopak tomu bylo v případě vysokomolekulárních podjednotek gluteninů, kde byl pozorován dokonce průkazný rozdíl mezi oběma ročníky (graf 4). U zbývajících frakcí, nízkomolekulárních podjednotek gliadinů a nízkomolekulárních podjednotek gluteninů byl jistý rozdíl pozorován, nebyl však již průkazný. Obecně můžeme charakterizovat ročník 2010 jako méně příznivý z hlediska technologické kvality bílkovinného komplexu. Klesal obsah vysokomolekulárních podjednotek gluteninů na úkor nízkomolekulárních podjednotek gliadinů a gluteninů. Vliv kvalitativní skupiny (E,A,B,C) nebyl prokázán. Zde se zřejmě negativně promítalo nedostatečné hnojení dusíkem, kdy dávka N byla 150kg/ha ale čerpání bylo o cca 100kg/ha vyšší, a příčinu musíme rovněž vidět v průběhu povětrnosti a vlivu lokality, kdy v roce 2009 na stanovišti Písky byly v důsledku sucha velmi nízké výnosy, což se do bílkovinného profilu výrazným způsobem promítlo. Všechny tyto vlivy způsobily, že se zřejmě vliv genotypu nemohl projevit a zkreslily i profil méně kvalitních tj. chlebových (B) a keksových (C) odrůd pšenic, které vykazovaly lepší vlastnosti, než je obvyklé. Grafu 5 vyjadřuje interakci vlivů lokality a kvalitativní skupiny na zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí. Jedná se tedy o dvoufaktorovou analýzu variance, kde můžeme současně sledovat, jak se projeví genotyp odrůdy v interakci se stanovištními podmínkami dané lokality. Na sušší lokalitě Písky se snižoval obsah nutričně hodnotných ale technologicky nevýznamných albuminů a globulinů včetně omega gliadinů. U vysokomolekulárních podjednotek gluteninů byly rozdíly mezi skupinami nepatrné na obou lokalitách, průkazně se zde ale projevila lokalita, kdy na stanovišti Písky byla tato bílkovinná frakce velmi nízká

Graf 3



Graf 4**Graf 5**

ZÁVĚR

V rámci tohoto projektu se podařilo při analýze vzorků pšenice najít a aplikovat metodu vhodnou pro měření bílkovinných frakcí zrna pšenice. Metoda, která byla použita se ukázala být vhodnou také pro stanovení detailní frakcionace gliadinového komplexu. Byl potvrzen vliv ročníku a lokality na zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí, nepotvrdil se výraznější vliv kvalitativní skupiny, což bylo zřejmě ovlivněno extrémně vysokými výnosy a minimálními výnosovými rozdíly mezi jednotlivými kvalitativně odlišnými skupinami pšenic. Negativně se zřejmě odrazila i nízká dávka N neodpovídající dosahovaným výnosům zrna. Potvrdilo se rozdílné složení bílkovinného komplexu v otrubách oproti ostatním frakcím (mouka, krupice). Byl prokázán vliv aplikace síry na bílkovinný komplex pšenice.

Tento projekt byl uskutečněn s podporou Interní grantové agentury Mendelovy univerzity v Brně (IP 16/2011).

P 8**SLEDOVÁNÍ AKRYLAMIDU V PRŮBĚHU SLADOVÁNÍ A V PIVU**

Mikulíková R., Svoboda Z., Běláková S., Benešová K.

Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s. Lípová 15, 120 44 Praha

ABSTRAKT

Akrylamid v potravinách vzniká v průběhu Maillardovy reakce a jeho prekurzory jsou redukující cukry a aminokyselina asparagin. Reakční mechanismus vzniku akrylamidu v potravinách závisí na složení potravin a na podmínkách zpracování.

Akrylamid vzniká ve významném množství tepelnou úpravou potravin nad 120 °C, maximum akrylamidu vzniká při 150 – 180 °C. Při vyšších teplotách je vznik akrylamidu podstatně nižší, protože eliminační reakce je rychlejší než reakce vzniku akrylamidu.

Surovinou pro výrobu sladu je ječmen, rostlina s obsahem dusíkatých sloučenin a s vysokým obsahem škrobu. V průběhu sladování se ve sladu působením enzymů zvyšuje obsah redukujících cukrů, během hvozdění dochází vlivem teploty k biochemickým změnám a vznikají melanoidinové látky. Tyto podmínky jsou velmi výhodné pro tvorbu akrylamidu. Změny hladin akrylamidu byly sledovány ve sladu a následně ve vyrobeném pivu.

Obsah akrylamidu se v závislosti na typu sladu pohyboval v rozmezí 0,2 – 3,0 mg.kg⁻¹ a bylo potvrzeno teplotní maximum jeho vzniku (160 - 170 °C). Přes jeho poměrně vysoký obsah ve sladu (0,2 – 3,0 mg.kg⁻¹), nebyl v žádném z analyzovaných vzorků piva akrylamid detekován.

P 9**SLEDOVÁNÍ VIABILITY PIVOVARSKÝCH KVASINEK POMOCÍ ELEKTROMIGRAČNÍCH METOD**

Pražáková Š., Kvasnička F., Volřich M.

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

ABSTRAKT

Sledování viability pivovarských kvasinek je jeden z nejdůležitějších kroků při výrobě piva. Pro výrobu piva se používají různé kmeny kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, které se opakovaně nasazují v závislosti na jejich stavu, který se zjišťuje pomocí různých kontrolních metod. Rozhodnutí, zda se kvasinky znovu použijí nebo nikoliv, závisí převážně na jejich viabilitě.

Tato studie byla zaměřena na zjištění vhodných podmínek pro separaci živých a mrtvých buněk pivovarských kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* DBM 03/26 pomocí izotachofórey. Pro porovnání byla sledována viabilita analyzované suspenze pomocí methylenové modře.

Klíčová slova: *Saccharomyces cerevisiae*, viabilita, elektromigrační metody

1 ÚVOD

Pro monitoring viability kvasinek se dnes v pivovarských provozech nejčastěji využívá metoda barvení methylenovou modří, což je metoda poměrně levná a rychlá (Basařová et al., 2010). Nevýhodou této metody je její subjektivnost, kdy záleží na osobě, která počítá obarvené a neobarvené buňky (resp. tedy mrtvé a živé) (Bapat et al., 2006). Popřípadě se stanovení viability provádí kultivační metodou na Petriho miskách. Toto stanovení je ale zdlouhavé (24-48 h), proto se v kontrolní praxi využívá jen zřídka.

V posledních letech se začínají využívat k separaci a identifikaci mikroorganismů v různých vědních oborech elektromigrační metody. Většina publikovaných prací na téma separace mikroorganismů pomocí elektromigračních metod se zabývá detekcí mikrobiální kontaminace a identifikačními možnostmi v lékařské, ale i v potravinářské oblasti. Výsledky experimentů naznačují, že separace a identifikace mikroorganismů založená na těchto metodách je velmi citlivá, levná a především velmi rychlá (Kłodzińska et al., 2010, Rypárová et al., 2008), a proto předpokládáme, že by se tato metoda dala využít pro stanovení viability pivovarských kvasinek.

2 MATERIÁL A METODY**2.1. Příprava suspenze buněk**

Spodní pivovarské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* DBM 03/26 (poskytl ústav biotechnologií, VŠCHT) byly anaerobně kultivovány v YPD médiu (10 g.l⁻¹ kvasničného extraktu, 50 g.l⁻¹ glukosy, 20 g.l⁻¹ peptonu) při 30 °C po dobu 24 hodin. Živé buňky kvasinek byly pro analýzu třikrát promyty ve fyziologickém roztoku při 3000 rpm po dobu 10 minut.

Suspenze kvasinek byla pro separaci mrtvých buněk inaktivována ve vodní lázni při teplotě 95 °C po dobu 15 minut. Inaktivace byla potvrzena kultivací na Petriho misky. Pro zjištění vhodných podmínek separace buněk kvasinek byly použity elektrolyty, které jsou uvedeny v tabulce I. Viabilita buněk daného ředění, popř. inaktivovaná suspenze byla stanovena barvením pomocí fosfátové methylenové modři o koncentraci 0,01%.

2.2. Podmínky analýzy

Měření bylo prováděno na elektroforetickém analyzátoru EA 101 s UV detektorem (254 nm). Pro měření byla použita separační FEP kapilára o délce 90 mm, s vnitřním průměrem 0,3 mm.

Hnací proud byl 20 μA , který byl při detekci snížen na 10 μA , suspenze buněk o objemu 30 μl byla dávkována manuálně. Naměřená data byla vyhodnocována programem ITPPro 32.

Tab.I Elektrolyty použité k separaci kvasinek pomocí izotachoforézy

LE ₁ : 2mM HCl + 4,3 mM EACA	pH 4,5
TE ₁ : 2mM MES	
LE ₂ : 2mM L-Histidin HCl+ 0,2 mM L-Histidin	pH 5,1
TE ₂ : 2mM MES	
LE ₃ : 2m HCl + 4 mM L-Histidin	pH 6,0
TE ₃ : 2mM MOPS + 2 mM L-Histidin	
LE ₄ : 2m L-Histidin HCl + 4 mM TRIS	pH 8,1
TE ₄ : 2mM TAPS + 1 mM TRIS	

EACA - 6-aminokapronová kyselina, MES - 2-Morpholinoethansulfonová kyselina, TRIS - α, α, α -Tris-(hydroxymethyl) methylamin, TAPS - N-Tris (hydroxymethyl)-methyl-3-amino propansulfonová kyselina, MOPS - Morpholinopropan sulfonová kyselina

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

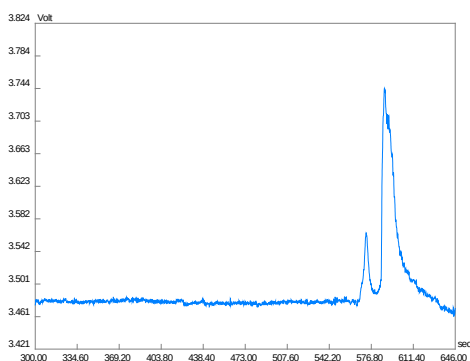
Viabilita kvasinek byla ověřována barvením pomocí 0,01% methylenové modře. Viabilita buněk (Tab. II) v YPD médiu byla nad 98 %, promytá a naředěná suspenze buněk pro analýzu vykazovala nižší viabilitu v důsledku působícího osmotického tlaku demineralizované vody, která byla použita pro ředění suspenze buněk kvasinek pro danou analýzu. Viabilita tepelně inaktivované suspenze buněk byla nulová, usmrcení buněk tepelným záhřevem bylo potvrzeno kultivací na Petriho miskách.

Tab. II Viabilita buněk kvasinek *Sacharomyces cerevisiae* DBM 03/26 sledovaná v různých podmínkách.

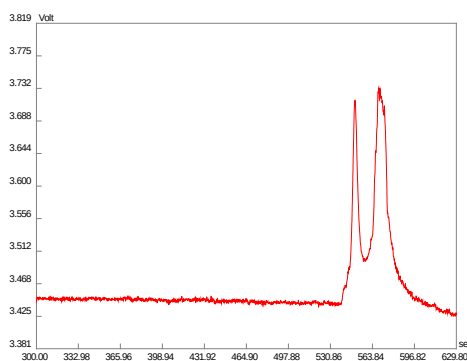
<i>podmínky prostředí</i>	<i>viabilita</i>
v kultivačním médiu	98,15 %
500x naředěná suspenze	91,42 %
1000x naředěná suspenze	91,25 %
500x naředěná inaktivovaná suspenze	0 %
1000x naředěná inaktivovaná suspenze	0 %

Pro oddělení živých a mrtvých buněk byly zkoušeny různé systémy elektrolytů o rozdílném pH vedoucího elektrolytu. Nejlepší záznamy separace buněk *Saccharomyces cerevisiae* byly získány s použitím elektrolytů LE1, TE1. Separace živých a mrtvých buněk kvasinek pomocí izotachoforézy jsou zobrazeny na grafech 1 – 4.

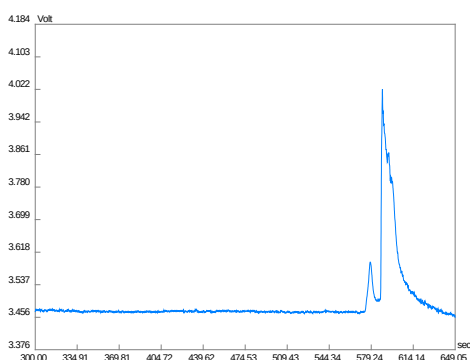
Plocha druhého píku zobrazeného na grafech 1 a 3, neinaktivované suspenze buněk, odpovídá živým buňkám kvasinek a látkám absorbujících při 254 nm, které mohou pocházet ze zbytků kultivačního média. Naopak první pík zobrazený na grafech 1 a 3 znázorňuje pravděpodobně vylitý obsah buněk, které byly s největší pravděpodobností usmrceny během manipulace při přípravě suspenze, (tedy odstředováním a ředěním v demineralizované vodě.)



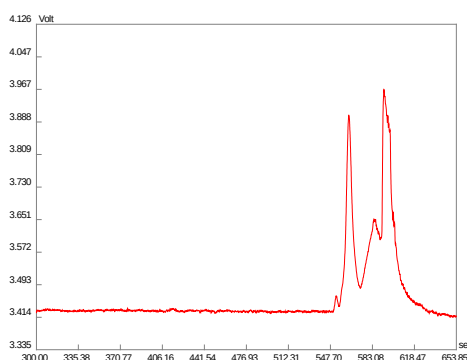
Graf 1: *Saccharomyces cerevisiae*
neinaktivovaná suspenze 1×10^{-3}



Graf 2: *Saccharomyces cerevisiae*
inaktivovaná suspenze 1×10^{-3}



Graf 3: *Saccharomyces cerevisiae*
neinaktivovaná suspenze 5×10^{-2}



Graf 4: *Saccharomyces cerevisiae*
inaktivovaná suspenze 5×10^{-2}

Ze záznamu separace inaktivovaných buněk na grafech 2 a 4 došlo ke zvětšení plochy prvního píku a to v důsledku vylití obsahu buněk *Saccharomyces cerevisiae* po tepelné inaktivaci. Plocha druhého píku se po tepelné inaktivaci buněk od původního očekávání nezměnila. Plochu s největší pravděpodobností tedy tvoří nejen látky absorbující při 254 nm, ale i možné meziprodukty, které mohou vznikat při tepelném záhřevu.

4 ZÁVĚR

Separace živých a mrtvých buněk *Saccharomyces cerevisiae* za daných podmínek není dostačující. Pro lepší separaci živých a mrtvých buněk *Saccharomyces cerevisiae* je třeba optimalizovat složení elektrolytů. Další možností je využití diskretního spaceru pro oddělení živých a mrtvých buněk kvasinek za daných podmínek nebo provedení separace v uspořádání CITP – CZE.

Tato studie byla financována z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.21/2012)

5 LITERATURA

- (1) Basařová G., Šavel J., Basař P., Lejsek T. (2010) Pivovarství, Teorie a Praxe výroby piva, VŠCHT Praha, Praha, 276–284.

- (2) Bapat P., Nandy S. K., Wangikar P., Venkatesh K. V. (2006) Quantification of metabolically active biomass using Methylene Blue Dey Reduction Test (MBRT): Measurement of CFU in about 200 s, *Journal of Microbiological Methods* 65, 107-116.
- (3) Kłodzińska E., Tănase S., Tomescu A., Moga M., Buszewski B. (2010) Capillary zone electrophoresis in determination of microorganisms, *Revue Roumaine de Chimie* 55, 283–288.
- (4) Rypářová O., Petr J., Kowalska M., Znaleziowa J., Knob R., Maier V., Frébort I., Ševčík J. (2008) Analýza mikroorganismů metodou kapilární elektroforézy, *Chemické listy* 102, 1121–1126.

P 10**PRŮTOKOVÁ CYTOMETRIE JAKO RYCHLÁ A PŘESNÁ METODA DETEKCE VIABILITY PIVOVARSKÝCH KVASINEK**Linhová M.¹, Pražáková Š.², Patáková P.¹, Rychtera M.¹, Kvasnička F.², Melzoch K.¹¹⁾ Ústav biotechnologie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6²⁾ Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6**Úvod:**

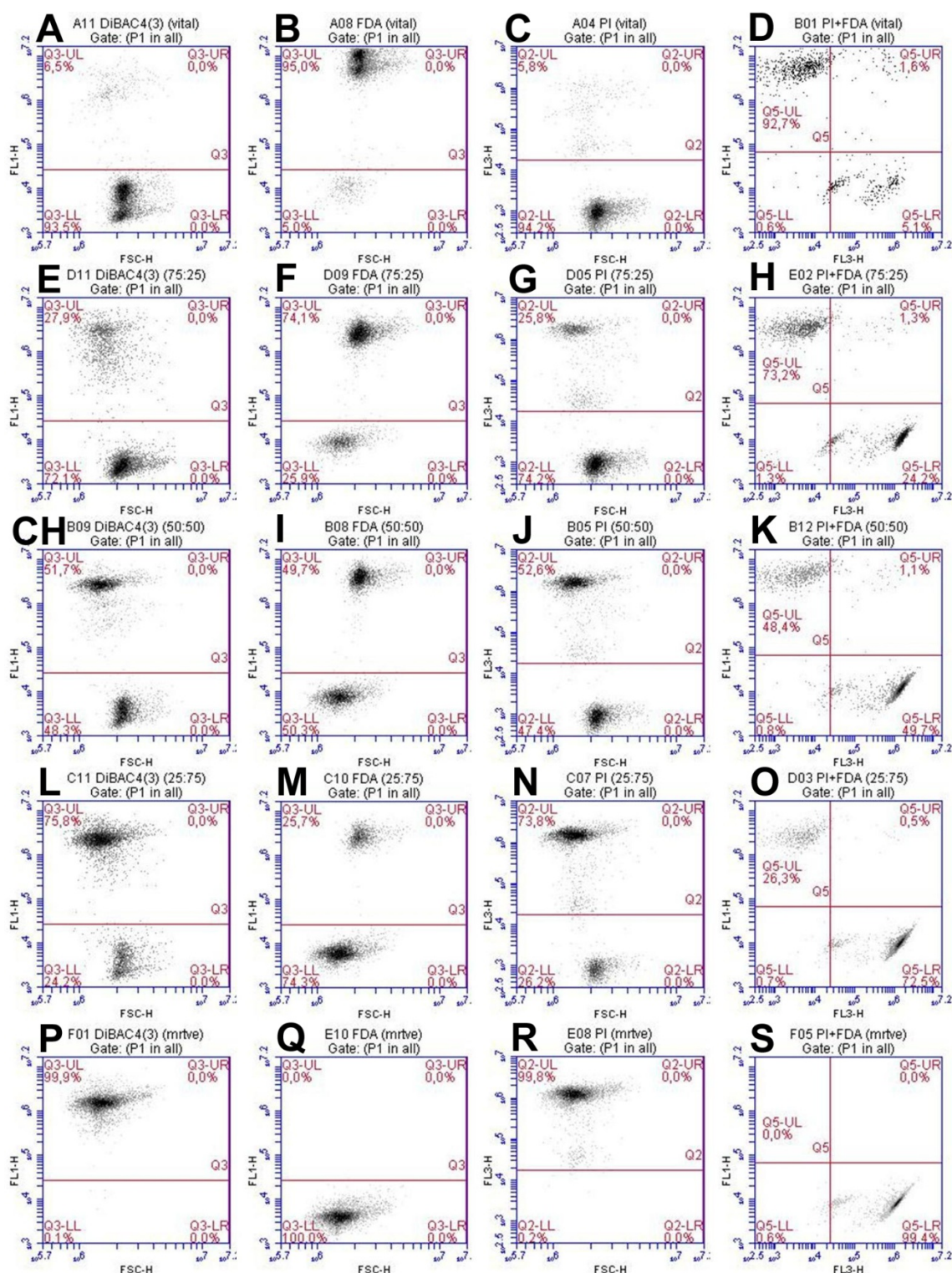
Kvasnice, které se využívají při výrobě piva, je vhodné z ekonomických důvodů nasazovat opakovaně. Kvasinky nicméně nelze recyklovat stále, protože jsou během kultivace vystavovány stresovým faktorům jako je limitace živinami, hydrostatickému, osmotickému a ethanolovému stresu a dalším vlivům, které negativně ovlivňují jejich fyziologický stav (Kobayashi *et al.*, 2007). Proto se při opětovném nasazení kvasnic kontroluje jejich viabilita jako jeden z významných ukazatelů fyziologického stavu populace, která se zjišťuje pomocí různých standardních metod. V pivovarských provozech se dnes nejčastěji využívá metoda barvení methylenovou modří (Basařová *et al.*, 2010), která je poměrně levná a rychlá ale také vysoce subjektivní (Nebe-von-Caron *et al.*, 2000). Další možností je kultivační stanovení viability na Petriho miskách, tato metoda se v kontrolní praxi využívá jen zřídka, protože poskytuje výsledky až za 24-48 h.

Viabilitu mikroorganismů lze určit také pomocí fluorescenčního značení s následnou detekcí průtokovou cytometrií. Tato metoda je naopak velice rychlá a robustní. Tyto výhody plynou hlavně z toho, že umožňuje stanovení velkého počtu buněk (10 000 až 100 000) v řádu minut (Davey a Kell, 1996). Proto jsme si ke stanovení viability pivovarských kvasinek vybrali právě tuto metodu. Cílem této práce bylo ověřit možnosti stanovení viability *S. cerevisiae* vybranými fluorescenčními sondami za podmínek anaerobní kultivace pro možnosti využití této techniky v pivovarském průmyslu.

Materiály a metody:*Mikroorganismus* : *Saccharomyces cerevisiae* DBM 03/26*Kultivační podmínky*: anaerobní kultivace, počáteční pH 6, 30 °C, bez úpravy pH během kultivace, YPD médium (10 g.l⁻¹ kvasničného extraktu, 50 g.l⁻¹ glukosy, 20 g.l⁻¹ peptonu)*Průtokový cytometr*: BD Accuri C6 (Accuri Cytometers, Velká Británie), CFlow plus software (Accuri Cytometers, Velká Británie)*Podmínky analýzy*: průtok nosné kapaliny: 14 µl.min⁻¹, práh detekce částic: 50000 částic na FSC-H a SSC-H, počet analyzovaných částic: 5000, vzorky byly dvakrát promyty a naředěny fyziologickým roztokem (0,85 % NaCl) tak, aby průtok buněk při analýze odpovídal cca 150 buňkám za sekundu, během analýzy na průtokovém cytometru byly detekovány signály z fluorescenčních kanálů FL1-H a FL3-H*Validace průtokového cytometru*: 2,5 a 1 µm kalibrační kuličky (Invitrogen, USA)*Fluorescenční značení*: bis-(1,3-dibutylbarbiturová kyselina) trimethin oxonol (DiBAC₄(3)) o c=0,5 µg.ml⁻¹ po dobu 15 min, propidium jodid (PI) o c=10 µg.ml⁻¹ po dobu 10 min, fluorescein diacetát (FDA) o c=10 µg.ml⁻¹ po dobu 10 min*Mikroskopická kontrola*: fluorescenční mikroskop BX-51 (Olympus, Japonsko), zvětšení: 1000×, fotoaparát: Olympus C-5050ZOOM (Olympus, Japonsko)**Výsledky a diskuse:**

Pro stanovení viability mikroorganismů se běžně používají fluorescenční sondy PI, FDA a DiBAC₄(3), které byly také použity v této práci. PI detekuje viabilitu na základě značení buněk s permeabilizovanou buněčnou membránou, FDA detekuje vitální buňky na základě jejich esterasové aktivity a DiBAC₄(3) značí buňky s depolarizovanou buněčnou membránou (Shapiro, 2003). Z obr. 1 vyplývá, že viabilita jednotlivých populací vitálních, fixovaných a populací vytvořených smícháním vitálních a fixovaných buněk byla pro DiBAC₄(3) 93,0±0,5 %; 73,4±1,3 %; 48,3±0,1 %; 22,6±2,0 % a 0,2±0,3 % a tudíž odpovídala předpokládané viabilitě, která vznikla na základě

smíchání vitální a fixované populace v poměru 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 a 0:100. DiBAC₄(3) použili úspěšně ke stanovení viability pivovarských kvasinek také Boyd *et al.* (2003).

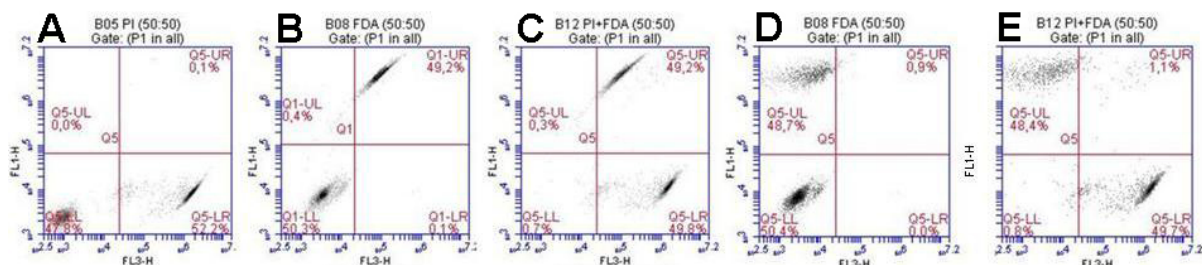


Obr. 1: Dot plot diagramy *S. cerevisiae* značené DiBAC₄(3) (A, E, CH, L, P), FDA (B, F, I, M, Q), PI (C, G, J, N, R) a kombinací PI a FDA (D, H, K, O, S)

analýzy byly prováděny na populacích vitálních buněk (A - D), fixovaných buněk (P - S) a kombinacích těchto 2 populací (vitální:fixované buňky) v poměru 25:75 (L - O), 50:50 (CH - K) a 75:25 (E - H)

Lepší variantou pro sledování viability se zdá být analýza buněk značených FDA a PI současně, kdy získáme najednou informaci o 2 různých vlastnostech fyziologického stavu buňky za stejný čas. Abychom mohli analyzovat buňky současně značené více fluorescenčními sondami, je nutné provést nejprve analýzu buněk značených těmito sondami jednotlivě (obr. 2A, 2B) a poté

dohromady (obr. 2C) a na základě těchto výsledků nastavit vhodnou kompenzaci fluorescenčních signálů (obr. 2D a 2E) a poté lze již analyzovat buňky značené oběma fluorescenčními sondami najednou. V tomto případě bylo nutné provést kompenzaci pouze signálu FL1-H u FDA, který zasahoval do FL3-H u PI. Podobným způsobem provedl kompenzaci signálů při značení buněk zubního plaku u kombinace PI a dichloro-carboxy-fluorescein- diacetat-succinimidyl esteru (CCFAS) úspěšně také Nebe-von-Caron *et al.* (2000), CCFAS stejně jako FDA odráží esterasovou aktivitu buněk.

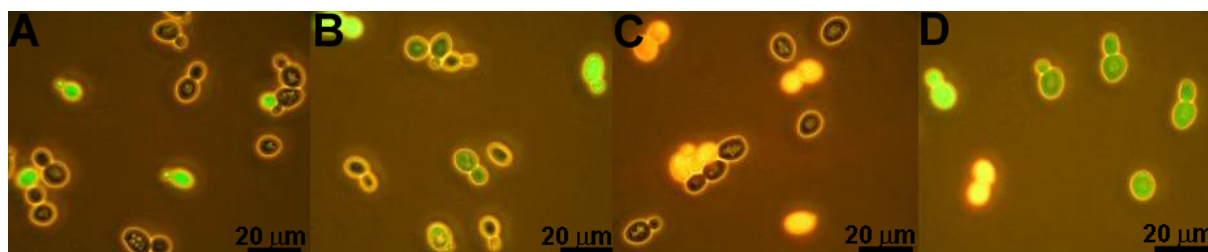


Obr. 2: Kompenzace fluorescenčního kanálu FL1-H pro analýzu *S. cerevisiae* značené současně FDA a PI

kompenzace byla prováděna na populaci buněk, která byla vytvořena smícháním 2 populací (vitální:fixované buňky) v poměru 50:50; A - buňky značené PI, bez kompenzace; B - buňky značené FDA, bez kompenzace; C - buňky značené PI a FDA, bez kompenzace; D - buňky značené FDA, s kompenzací; E - buňky značené PI a FDA, s kompenzací

Dále jsme tedy sledovali viabilitu pomocí PI a FDA. Pro tyto fluorescenční sondy byla v oddělených analýzách stanovena viabilita $93,8 \pm 0,4$ %; $73,0 \pm 1,3$ %; $47,7 \pm 0,4$ %; $26,4 \pm 0,2$ % a $0,3 \pm 0,1$ % resp. $94,5 \pm 0,4$ %; $74,2 \pm 0,8$ %; $49,6 \pm 0,5$ %; $26,5 \pm 1,0$ % a $0,0 \pm 0,0$ % (Obr. 2) pro PI resp. FDA a tudíž značení těmito barvivy taktéž odpovídalo předpokládané viabilitě populací, které vznikly smícháním vitální a fixované populace v poměru 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 a 0:100. Pokud srovnáme značení těmito 2 fluorescenčními sondami jednotlivě ve 2 samostatných analýzách a společně v 1 analýze je korelační koeficient těchto 2 stanovení 0,99, a proto tedy lze s výhodou provádět značení těmito 2 fluorescenčními sondami dohromady a zároveň jsme potvrdili, že byla nastavena správně kompenzace fluorescenčního signálu FL1-H. Kombinaci značení FDA a PI úspěšně použili ke stanovení viability také Prudêncio *et al.* (1998) při sledování vlivu octové kyseliny na viabilitu *S. cerevisiae* a *Zygosaccharomyces bailii*.

Všechny vzorky, které byly stanoveny na průtokovém cytometru, byly kontrolovány také pomocí mikroskopického stanovení. Z obr. 3 je patrné, že buňky se dobře značily jednotlivými použitými fluorescenčními sondami a tím se potvrdila správnost výsledků získaných průtokovou cytometrií.



Obr. 3: Mikrofotografie *S. cerevisiae* značené fluorescenčními sondami DiBAC₄(3) (A), FDA (B), PI (C), PI a FDA (D)

mikroskopie byla prováděna s populací buněk, která byla vytvořena smícháním 2 populací (vitální:fixované buňky) v poměru 50:50, A - zeleně značené fixované b. DiBAC₄(3), B - zeleně značené vitální b. FDA, C - červeně značené fixované b. PI, D - zeleně značené vitální b. FDA a červeně značené fixované b. PI

Závěr:

Během našich experimentů jsme ověřili možnost detekce viability *S. cerevisiae* pomocí fluorescenčních sond PI, FDA, DiBAC₄(3). Vynuli jsme také metodu kompenzace fluorescence pro analýzu *S. cerevisiae* značené současně FDA a PI. Tímto způsobem lze tedy detekovat viabilitu na základě permeability buněčné membrány a esterasové aktivity rychle během jedné analýzy (délka jedné analýzy na průtokovém cytometru - 1 min, značení fluorescenčními sondami - 10 min). Vzhledem k tomu, že průtokové cytometry již dnes patří mezi snadno dostupné vybavení, ať už po stránce ekonomické, tak po stránce náročnosti obsluhy přístroje, zdá se že by mohly snadno najít uplatnění třeba v pivovarském provozu pro rutinní kontrolu viability várečných kvasnic před jejich opětovným nasazením.

Tato studie byla financována z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.21/2012) a z grantu GAČR P503/12/1424.

Literatura:

- Basařová G., Šavel J., Basař P., Lejsek T. (2010) Pivovarství, teorie a praxe výroby piva, VŠCHT Praha, Praha, pp. 277
- Boyd A. R., Gunasekera T. S., Attfield P. V., Simic K., Vincent S. F., Veal D. A. (2003) A flow-cytometric method for determination of yeast viability and cell number in a brewery, FEMS Yeast Research 3, pp. 11-16
- Davey H. M., Kell D. B. (1996) Flow cytometry and cell sorting of heterogeneous microbial populations: the importance of single-cell analyses, Microbiological Reviews 60, pp. 641-696
- [Kobayashi M.](#), [Shimizu H.](#), [Shioya S.](#) (2007) Physiological analysis of yeast cells by flow cytometry during serial-repitching of low-malt beer fermentation, Journal of Bioscience and Bioengineering [103](#), pp. 451-456
- Nebe-von-Caron G., Stephens P. J., Hewitt C. J., Powell J. R., Badley R. A. (2000) Analysis of bacterial function by multi-colour fluorescence flow cytometry and single cell sorting, Journal of Microbiological Methods 42, pp. 97-114
- Prudêncio C., Sansonetty F., Côrte-Real M. (1998) Flow Cytometric Assessment of Cell Structural and Functional Changes Induced by Acetic Acid in the Yeasts *Zygosaccharomyces bailii* and *Saccharomyces cerevisiae*, Cytometry 31, pp. 307-313
- Shapiro H. M. (2003) Practical flow cytometry, 4th ed. Wiley-Liss Inc., New York.

P 11**VYUŽITÍ JEDNOBUNĚČNÝCH ŘAS *CHLORELLA* SP. V PIVOVARNICTVÍ**

Širmerová M., Bittner M., Brányik T.

Ústav biotechnologie, VŠCHT Praha

ABSTRAKT

V současné době se hledají nové možnosti výroby všeobecně oblíbeného nápoje, kterým je pivo. Stoupající ceny obilí a potřeba rozšíření sortimentu vede pivovary k hledání nových zajímavých chutí, které by přitahovaly nové konzumenty. Dalším a neméně důležitým důvodem je současná poptávka spotřebitele po zdraví prospěšných produktech. Jednou z možností, jak vyhovět při produkci piva všem těmto kritériím je použití biomasy jednobuněčných zelených řas rodu *Chlorella* sp., jako částečné náhražky ječného sladu.

Sladkovodní zelené řasy rodu *Chlorella* sp. jsou mikroskopické eukaryotní mikroorganismy, které jsou využívány v potravinářském a farmaceutickém průmyslu pro jejich pozitivní vliv na lidské zdraví.

Jednou z možností využití mikroskopických řas v potravinářství je výroba tzv. řasového piva. Mezi výhody tohoto nápoje na bázi piva patří především vysoký obsah tzv. *Chlorella* růstového faktoru. Jedná se o směs DNA, RNA, aminokyselin, vitaminů a dalších látek, která výrazně podporuje buněčný růst a má protinádorový a imunostimulační efekt.

Cílem této práce bylo připravit řasové pivo, které splňuje výše zmíněné kvalitativní požadavky. Pivo bylo připraveno tzv. infuzím způsobem, při kterém byla biomasa řas přidávána buď ve formě hydrolyzátu během chmelovaru, nebo ve formě sušené biomasy společně s ječným sladem hned na začátku varného procesu do tzv. vystírky.

Výsledkem bylo pivo s charakteristickým aroma i barvou, které navíc obsahuje „*Chlorella* růstový faktor“ a má tudíž výše uvedené pozitivní zdravotní efekty na lidský organismus.

P 12**PREDIKCE ADHEZE MIKROORGANISMŮ KONTAMINUJÍCÍ POTRAVINÁŘSKÉ PROVOZY**

Procházková G., Bittner M., Širíšťová L., Vondra V., Brányik T.

Ústav biotechnologie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28, Praha 6

Úvod

Činnost nepatogenních, sporotvorných, mikrobiálních kontaminantů způsobuje každoročně ekonomicky významné znehodnocení potravin a nápojů. Zdrojem kontaminace mohou být nedostatečně hygienicky ošetřené vstupní suroviny, kontaminovaná voda anebo samotné mikroorganismy, které jsou ve variabilních buněčných seskupeních uchycené na površích výrobního provozu. Spory těchto mikroorganismů pak přežívají pasterizační procesy a následně za vhodných podmínek germinují. Správnou identifikací nejdůležitějších faktorů adheze mikroorganismů lze tomuto jevu volbou správných materiálů předejít. Cílem předložené práce bylo přispět k poznání mechanismů adheze (a následné kolonizace materiálů výrobních procesů) použitím fyzikálně-chemických přístupů, přičemž byly vybrány dva významné kontaminanty potravin/nápojů (*Clostridium beijerinckii* a *Alicyclobacillus acidoterrestris*). Pokusy byly provedeny za modelových podmínek (10 mmol.dm⁻³ KCl, pH 7) použitím modelových skleněných nosičů se specifickou povrchovou úpravou, odpovídající svými povrchovými vlastnostmi kolonizovaným abiotickým povrchům v potravinářském provozu. Nejprve byly studovány povrchové vlastnosti buněk a skleněných nosičů měřením kontaktních úhlů a zeta-potenciálu. Následně podle získaných výsledků byly provedeny vlastní predikce adheze použitím Termodynamického přístupu spolu s klasickou a rozšířenou DLVO teorií, s cílem stanovit podmínky vedoucí k (ne)úspěšné adhezi mikroorganismů na studované materiály.

Experimentální část

Mikroorganismus a jeho kultivace: Buněčná populace *Clostridium beijerinckii* CCM 6218 byla kultivována dle Linhová a kol. (2012) použitím modifikovaného TYA média obsahující 20 g/l glukosy a poloviční množství ostatních komponent než je popsáno autory Patáková a kol. (2009). Druhý testovaný kmen *Alicyclobacillus acidoterrestris* CCM 4660 byl kultivován v Erlenmeyerových baňkách při 45°C a 150 rpm použitím *Alicyclobacillus* média B109 dle pokynů České sbírky mikroorganismů (CCM). Buňky byly kultivovány po dobu cca 24 hodin až k dosažení stacionární fáze růstu, poté byly dvakrát promyty destilovanou vodou (Sorvall, 6000 rpm, 10 minut, 20°C) a resuspendovány v destilované vodě. Získaná buněčná suspenze byla použita pro následnou fyzikálně-chemickou charakteristiku buněčných povrchů.

Povrchová úprava modelových skleněných nosičů: Skleněná podložní sklička byla hydrolyzovaná, silanizovaná anebo upravena použitím 3-aminopropyltriethoxysilanu (APTES) (Qin a kol., 2007).

Fyzikálně-chemická charakterizace interagujících povrchů: Měření kontaktních úhlů buněk a nosičů bylo provedeno použitím vody, formamidu a 1-bromnaftalenu (CAM200, KSV, Finland) na základě literatury (Kuřec a Brányik, 2011). Dále následovalo měření zeta potenciálů buněk a skleněných nosičů v modelovém prostředí 10 mmol.dm⁻³ KCl o pH 7. V případě suspenze buněk (mající absorbanci 0,1 při 600 nm) byl zeta potenciál měřen použitím přístroje Zetasizer Nano ZS (Malvern, United Kingdom), a v případě modelových skleněných nosičů (o velikosti 20x10 mm) přístroj SurrPAAR (Anton Paar, Austria).

Predikce mikrobiální adheze: Predikce (ne)vhodných podmínek pro mikrobiální adhezi na studované skleněné nosiče byla provedena použitím XDLVO teorie pro systém buňka (kulovitá částice) – vodné prostředí – nosič (rovný povrch) dle autorů Procházková a kol. (2011).

Výsledky a diskuze

Testované modelové mikroorganismy, *C. beijerinckii* spolu s *A. acidoterrestris*, náleží mezi sporotvorné, tyčinkovité, gram-pozitivní bakterie, mající různé fyziologické požadavky. Buněčné

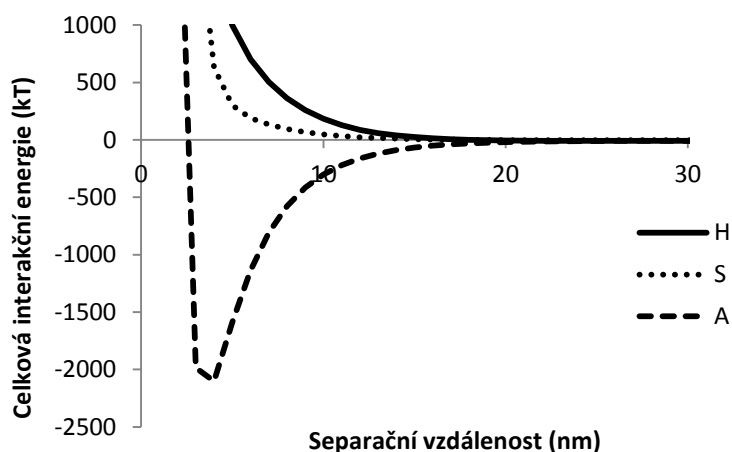
populace *C. beijerinckii* jsou anaerobní a mezofilní, a naproti tomu *A. acidoterrestris* požaduje aerobní atmosféru a je acido-termofilní.

Fyzikálně-chemické vlastnosti buněčných povrchů, které lze charakterizovat např. měřením kontaktních úhlů a zeta potenciálů, mohou sehrát důležitou roli při mikrobiálním uchycení, kolonizaci povrchů a následné kontaminace potravin či nápojů. V případě výše uvedených bakteriálních druhů není fyzikálně-chemická charakteristika buněčných povrchů moc popsána, lze ale předpokládat že díky jejich variabilním životním požadavkům budou jejich buněčné povrchy různě vybaveny. V případě měření kontaktních úhlů (Tab. I.) jsou všechny hodnoty vyšší u buněčné populace *C. beijerinckii* v porovnání s hodnotami buněčné populace *A. acidoterrestris*, indikující hydrofobnější a nepolární charakter povrchu buněk rodu *Clostridium*. Hydrofobní charakter bakterií rodu *Clostridium* byl popsán autory Krishna a kol. (1996), mající jako modelový mikroorganismus *Clostridium difficile*. V případě zeta potenciálů mají oba mikrobiální druhy záporně nabitý buněčný povrch, což je v souladu s obecným trendem, kdy mikrobiální buňky disponují převážně negativním nábojem svého povrchu za podmínek nízkých iontových sil (Bos a kol., 1999). Modelové skleněné nosiče vykazovaly různé hodnoty v závislosti na použité povrchové úpravě.

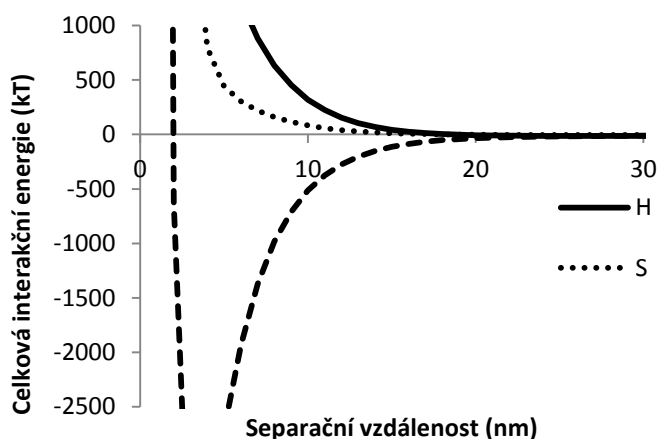
Tab. I. Fyzikálně-chemická charakterizace interagujících povrchů

Studovaný povrch	Kontaktní úhly (°)			Zeta potenciál (mV)
	Voda	Formamid	1-Bromnaftalen	
<i>C. beijerinckii</i>	38,6 ±2,4	48,3±2,3	50,4±3,2	-22,6±0,33
<i>A.acidoterrestris</i>	23,4±2,8	31,3±3,1	39,0±2,5	-39,0±0,49
Hydrolyzované sklo	30,0±3,8	17,0±2,8	32,2±2,8	-38,0±0,65
Silanizované sklo	102,7±0,5	89,5±1,7	58,7±9,3	-10,0±0,21
APTES sklo	75,3±1,4	53,4±2,9	40,6±2,1	48,5±0,58

Získané výsledky fyzikálně-chemických charakteristik studovaných povrchů představovaly spolu s velikostmi buněk (Jensen, 1999; Robinson, 2000) vstupní data pro predikci mikrobiální adheze na modelové, skleněné nosiče pomocí teorie XLDVO v prostředí 10 mmol.dm⁻³ KCl a pH 7 (Obr. 1 a Obr. 2). Soudržnost interagujícího systému buňka-nosič ve vodním prostředí je výhodná, pokud celková interakční energie adheze je záporná a naopak (Bos a kol., 1999). Z energetického hlediska nejstabilnější adhezi, bez přítomnosti odpudivých sil, lze očekávat v případě interakce *C. beijerinckii* či *A. acidoterrestris* se skleněným nosičem upraveným použitím 3-aminopropyltriethoxysilanu (APTES sklo). Tato záporná interakční energie mezi APTES sklem a buňkami bakterií vzniká zejména z důvodů opačného povrchového náboje a tím generované elektrostatické přitažlivosti. U silanizovaného či hydrolyzovaného skla nebude pravděpodobně docházet k mikrobiální adhezi z důvodu působení vysoké energetické bariéry (pozitivní hodnoty celkové interakční energie). Provedené predikce je ale nutné ještě ověřit reálnými testy mikrobiální adheze, což je předmětem následujícího výzkumu.



Obr. 1. Predikce adheze buněčné populace *C. beijerinckii* na skleněný nosič hydrolyzovaný (H), silanizovaný (S) či upravený použitím 3-aminopropyltriethoxysilanu (A) v prostředí 10 mmol.dm⁻³ KCl a pH 7 použitím XDLVO teorie.



Obr. 2. Predikce adheze buněčné populace *A. acidoterrestis* na skleněný nosič hydrolyzovaný (H), silanizovaný (S) či upravený použitím 3-aminopropyltriethoxysilanu (A) v prostředí 10 mmol.dm⁻³ KCl a pH 7 použitím XDLVO teorie.

Závěr

Fyzikálně-chemická povaha adheze mikrobiálních kontaminantů za modelových podmínek (10 mmol.dm⁻³ KCl o pH 7) byla studována pomocí XDLVO teorie a lze usoudit, že nejvhodnějším nosičem pro adhezi obou typů bakterií (*C. beijerinckii* a *A. acidoterrestis*) je sklo upravené použitím 3-aminopropyltriethoxysilanu. Klíčové interakce mikroorganismus-nosič jsou pravděpodobně v podobě elektrostatického přitahování/odpuzování. Do budoucna je potřeba provést ještě verifikaci predikce pomocí adhezních testů *in vitro*.

Poděkování

Tato práce vznikla za finanční podpory GAČR (P503/10/P182) a GAČR (P503/12/1424).

Použitá literatura

- Bos R., van der Mei H.C., Busscher H.J. (1999) *Physico-chemistry of initial microbial adhesive interaction – its mechanism and methods for study*. FEMS Microbiology Reviews, 23, 179-230.
- Jensen N. (1999) *Alicyclobacillus: a new challenge for the food industry*. Food Australia 51, 33-36.
- Krishna M.M., Powell N.B.L., Borriello S.P. (1996) *Cell surface properties of Clostridium difficile: heamagglutination, relative hydrophobicity and charge*. Journal of Medical Microbiology 44, 115-123.

- Kučec M., Brányik T. (2011) *The role of physicochemical interactions and FLO genes expression in the immobilization of industrially important yeasts by adhesion*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 84, 491–497.
- Linhová M., Branská B., Patáková P., Lipovský J., Fribert P., Rychtera M., Melzoch K. (2012) *Rapid flow cytometric method for viability determination of solventogenic clostridia*. Folia Microbiologica, published online.
- Patáková P., Lipovský J., Čížková H., Fořtová J., Rychtera M., Melzoch K. (2009) *Exploitation of food feedstock and waste for production of biobutanol*. Czech Journal of Food Sciences 27(4), 276–283.
- Procházková G., Jirků V., Bartovská L., Brányik T. (2011) *Použití fyzikálně-chemických přístupů pro predikci mikrobiální adheze*. Chemické listy 105, 856–863.
- Qin M., Hou S., Wang L., Feng X., Wang R., Yang Y., Wang C., Yu L., Shao B., Qiao M. (2007) *Two methods for glass surface modification and their application in protein immobilization*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 60, 243–249.
- Robinson R. (2000) *Clostridium: Clostridium acetobutylicum*. Encyclopedia of Food Microbiology, Elsevier, str. 445–450.

P 13

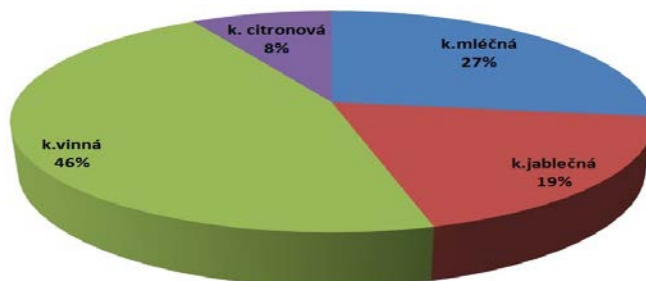
VLIV ORGANICKÝCH KYSELIN NA SENZORICKÉ VLASTNOSTI VÍNA

Vošmerová D, Knápek J., Rittichová J.

Státní zemědělská a potravinářská inspekce, Inspektorát v Brně, Květná 15, 603 00 Brno

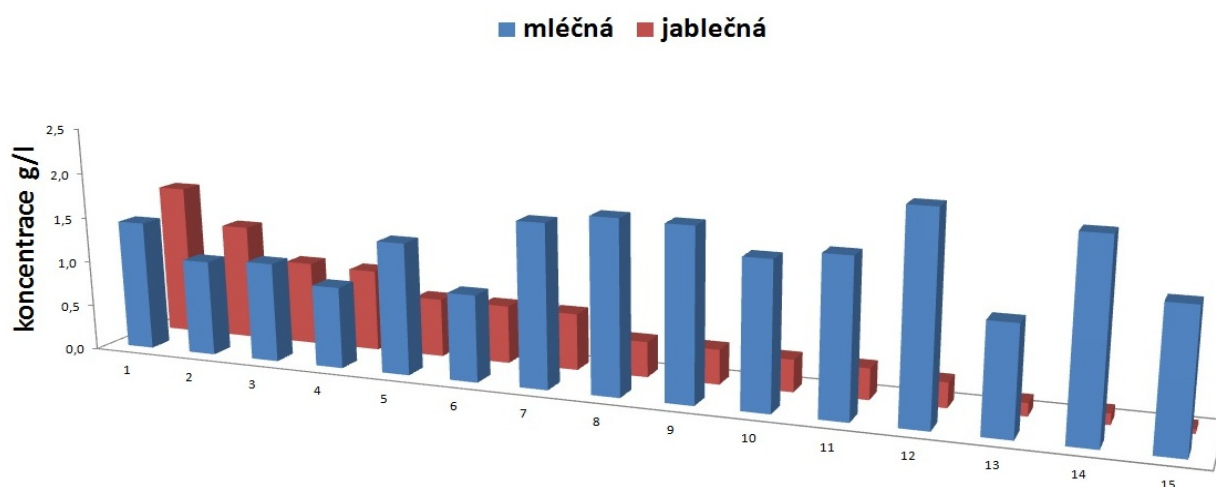
Organické kyseliny se velmi výrazně podílejí na senzorickém vjemu v chuti vína. Tento vjem může být jak pozitivní, tak negativní, přičemž záleží nejen na typu kyseliny, kterou je kyselá chuť tvořena, ale hlavně na poměrném zastoupení jednotlivých kyselin tak, aby ve víně dotvořily harmonickou, vyrovnanou chuť. Kromě přirozeného zdroje kyselin z hroznových bobulí, je v technologii výroby vína povoleno i přikyselování (je povoleno přikyselovat kyselinou vinnou, jablečnou nebo mléčnou až o 2,5g/l vyjádřeno jako k. vinná) nebo odkyselování vinných moštů.

Dále se vzájemný poměr kyselin mění během fermentačního procesu. Záleží přitom na druhu kvasinek či bakterií, které fermentaci provádějí a samozřejmě na tom, zda je tento proces řízený či samovolný. V dnešní době se při využití moderních biochemických postupů v technologii výroby vína používá řízená jablečno-mléčná fermentace k odbourávání sensoricky výrazně „ostré“ kyseliny jablečné na kyselinu mléčnou, která má „měkčí“ dochuť. (viz obr.č.1)



Obr. 1: Průměrné zastoupení majoritních organických kyselin v dnešních vínech, kdy díky rozšíření používání jablečno-mléčné fermentace při výrobě vína začíná kyselina mléčná převažovat nad kyselinou jablečnou (k. vinná 2,03g/l, k. mléčná 1,20g/l, k. jablečná 0,82g/l, k. citronová 0,37g/l)

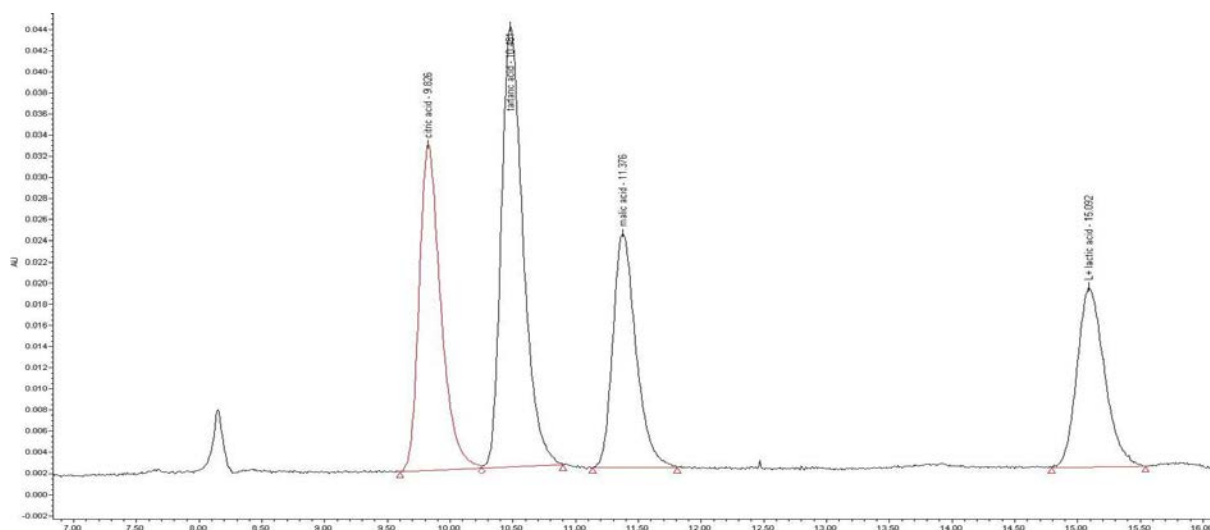
Avšak v případě samovolně běžících nežádoucích biologických procesů, způsobených divokými kmeny kvasinek, zahrnujících nejen jablečno-mléčnou fermentaci, ale i mléčné či máselné kvašení či následnou autolýzu kvasnic, vzniká kromě zvýšeného množství kyseliny mléčné (viz obr.č.2) i široké spektrum sensoricky negativních látek (diacetyl, acetoin, atd.)



Obr. 2: Porovnání koncentrací kyselin jablečné a mléčné ve vzorcích vín označených odborným panelem hodnotitelů jako vadná vína s defektem po nežádoucích biologických procesech

Samovolná neřízená fermentace kyselin, například jablečno-mléčné kvašení, při kterém se téměř veškerá kyselina jablečná přemění na kyselinu mléčnou, patří mezi nežádoucí biologické procesy a je označovaná jako technologická vada při výrobě vína.

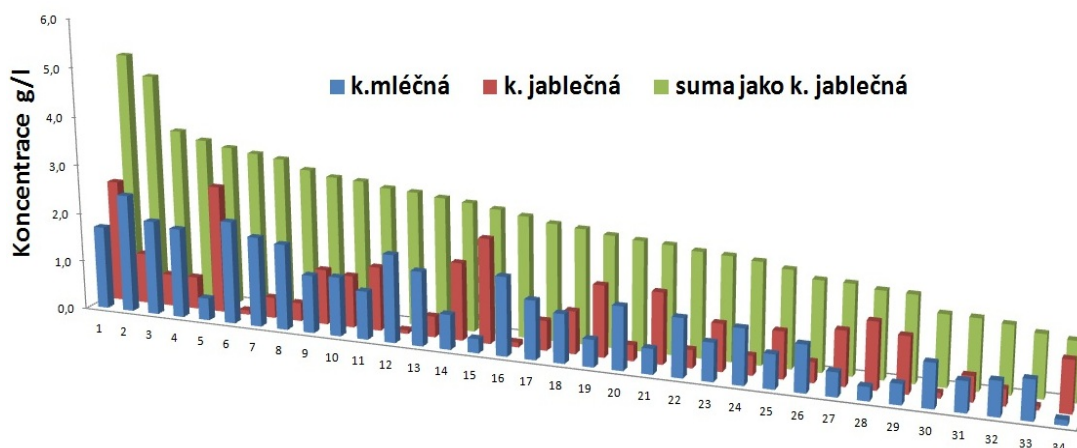
Organické kyseliny vína se z analytického pohledu dělí na kyseliny těkavé a netěkavé. Netěkavé kyseliny tvoří převážně kyselina vinná, jablečná, citrónová, jantarová a mléčná. Jejich obsah ve víně lze stanovit několika způsoby. Pro úřední kontrolu v oblasti vína jsou stanoveny postupy OIV (INTERNATIONAL ORGANISATION OF VINE AND WINE), které jsou publikovány v Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. SZPI má pro tyto účely akreditován postup OIV, jehož princip je založen na separaci organických kyselin pomocí HPLC (viz obr.č.3).



Obr. 3 Chromatogram organických kyselin (k. citrónová 9,83min., k. vinná 10,48 min., k. jablečná 11,38 min. a k. mléčná 15,10 min.)

Na obrázku č. 4 je prezentován soubor 34 vzorků vín označených odborným panelem hodnotitelů jako senzorycky vyhovující. U těchto vzorků se předpokládá vznik kyseliny mléčné biologickými činiteli většinou z jablečno-mléčného odbourávání, tzn. že ze stechiometrie rovnice popisující jablečno-mléčnou fermentaci mohla být vypočtena teoretická hodnota původní koncentrace kyseliny jablečné v mladém víně, resp. v moštu :

suma jako k. jablečná = 1 x konc. k. jablečné + 1,489 x konc. k. mléčné



Obr.4: Soubor vzorků vín označených odborným panelem hodnotitelů jako vyhovující.

Cílem této práce bylo ověřit shodu mezi senzoryckým hodnocením defektních vzorků vín, které byly označeny odbornými hodnotiteli jako vína s nežádoucími biologickými procesy, s analytickými výsledky ze stanovení organických kyselin. U vzorků se senzoryckou vadou „biologické procesy“ byla koncentrace kyseliny mléčné vždy nad 1 g/l (1-2,24 g/l). U senzorycky

vyhovujících vín, u kterých neproběhla jablečno-mléčná fermentace a nebyla použita kyselina mléčná na přikyselení, byly naměřeny koncentrace kyseliny mléčné již od 0,11 g/l.

Použitá literatura:

Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis, OIV- MA-AS313-04:R2009

Schlesier K., Fauhl-Hassek C., Forina M., Cotea V., Kocsi E., Schoula R., van Jaarsveld F., Wittkowski R. (2009) Characterisation and determination of the geographical origin of wines. Part I., J. Eur Food Res Technol 230:1-13

Poděkování:

Tímto děkuji za spolupráci všem členům odborného senzorického panelu pro hodnocení vín OZL I v Brně.

P 14**OPTIMALIZÁCIA VÝROBY STABILIZOVANÝCH POLYFENOLOV**

Máriássyová M., Káčerík S., Káčerík P.

GetWell, a.s., Hlavná 561, SK - 951 78 Koliňany

Od polovice minulého storočia predstavujú chronické neinfekčné ochorenia hlavnú príčinu mortality obyvateľstva. Jedná sa najmä o artériovú hypertenziu, kardiovaskulárne a nádorové ochorenia. Preto v súčasnosti narastá záujem o prírodné antioxidanty, ktoré sú známe schopnosťou predchádzať, čiastočne liečiť a taktiež urýchľovať rekonvalescenciu ľudí postihnutých týmito ochoreniami. Medzi hlavné skupiny prírodných antioxidantov zaradíme polyfenolové látky, ktoré, ako vyplýva z mnohých štúdií publikovaných v posledných rokoch, vykazujú zdraviu prospešné vlastnosti akými sú najmä antioxidačné, protizápalové, protinádorové, antimikrobiálne a antivirálne účinky. Z epidemiologických štúdií je zjavné, že existuje priama korelácia medzi obsahom polyfenolov v strave a prevencii konzumentov pred civilizačnými ochoreniami.

Vďaka pozitívnym biologickým účinkom polyfenolov vzrastá záujem o ich priemyselné využitie.

Cieľom práce bolo optimalizovať proces výroby stabilného komplexu polyfenolov z využitím výliskov z modrých odrôd hrozna, ktoré obsahujú flavonoidy (kaempferol, kvercetin, myricetin a izoramnetin), antokyaníny, resveratrol a ďalšie látky polyfenolovej povahy.

Materiál a metódy

Ako zdroj polyfenolov boli použité suché výlisky získané pri spracovaní modrých odrôd hrozna (polyfenoly 76,1 g.kg⁻¹, antokyány 15,9 g.kg⁻¹, pektín 28,3 g.kg⁻¹, sušina 90,51%). V prvom kroku sa optimalizoval postup extrakcie polyfenolov vodným roztokom hydroxidu sodného s rôznou koncentráciou.

Základné extrakčné pokusy boli realizované v intenzívne miešanom reaktore s objemom extrakčnej kvapaliny 1000 ml a návažkom vzorky 100 g pri teplote 20 °C. Úbytok objemu extrakčnej kvapaliny spôsobený odparením alebo odberom vzorky na stanovenie bol nahradený pridaním roztoku v požadovanej koncentrácii NaOH (0,1 mol. l⁻¹, 0,3 mol. l⁻¹ a 0,5 mol. l⁻¹). Vzorka bola po odbere prefiltrovaná cez filtračný papier a boli v nej stanovené polyfenoly, antioxidačná aktivita a merané spektrá v oblasti 200 až 800 nm. Doba extrakcie - 24 (0,5 mol. l⁻¹), resp. 48 hodín (0,1 a 0,3 mol. l⁻¹).

Ako základný kinetický parameter bola stanovená koncentrácia polyfenolov v definovaných časových intervaloch v extrakčnej kvapaline. V priebehu extrakcie sa sledovala aj zmena antioxidačnej aktivity. Účinnosť extrakcie sa vyhodnocovala na základe rýchlosti difúzie (v_D) polyfenolov (mg.min⁻¹)

$$v_D = (c_{i+1} - c_i) / (t_{i+1} - t_i)$$

kde c_{i+1} - koncentrácia polyfenolov v extrakčnej kvapaline v čase t_{i+1} minút (mg. l⁻¹)

c_i - koncentrácia polyfenolov v extrakčnej kvapaline v čase t_i minút (mg. l⁻¹)

Antioxidačnú aktivitu sme stanovovali modifikovanou metódou DPPH podľa Brand-Williamsa et al. (1995) a Sánchez-Moreno et al. (1998). Princípom metódy je redukcia stabilného radikálu 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (DPPH) v metanolickej roztoku v prítomnosti antioxidantov, ktorá sa prejavuje poklesom absorbie pri 515 nm.

Antioxidačná aktivita je vyjadrená ako % inhibície DPPH radikálu.

$$\% \text{ inhibície} = [(A_0 - A_t) / A_0] \times 100$$

kde A_0 - absorbanca kontroly v čase $t=0$ min (roztok DPPH)

A_t - absorbanca v prítomnosti antioxidantu v čase t min.

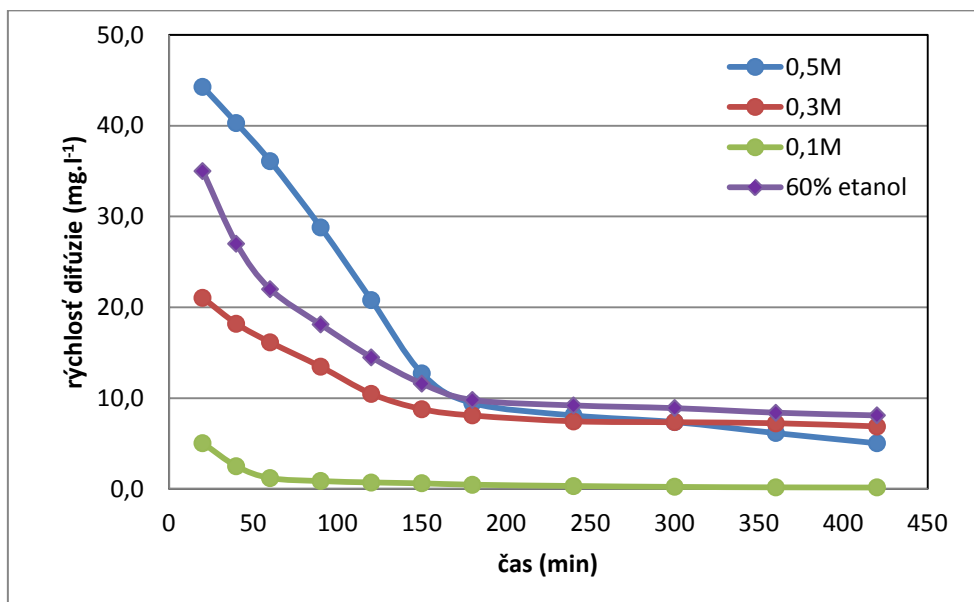
Obsah polyfenolov sme stanovili spektrofotometricky pri 700 nm po reakcii s Folin-Ciocalteu činidlom (Singleton et al. 1999). Je vyjadrený ako ekvivalent kyseliny galovej (mg. l⁻¹).

Všetky merania sa uskutočnili trikrát, štatistické hodnotenie údajov sa robilo pomocou programu StatgraphicS 5. Výsledky meraní sú vyjadrené ako priemer a štatistická odchýlka.

Výsledky a diskusia

Optimalizoval sa postup extrakcie polyfenolov z výliskov modrých kultivarov hrozna, ktoré majú vysoký obsah flavonoidov a polyfenolov s antioxidačnou aktivitou ako sú rutín, kvercetín, resveratrol, katechíny, epikatechíny a diméry, triméry a tetraméry prokyanidínov (Leifert 2008 a,b, Singletary et al., 2003, Xia et al. 2010, Yi et al. 2005).

Na extrakciu bol použitý roztok hydroxidu sodného v koncentrácii 0,1 až 0,5 mol.l⁻¹. Účinnosť extrakcie sa vyhodnocovala na základe rýchlosti difúzie polyfenolov a zmeny antioxidačnej aktivity v jednotlivých extrakčných stupňoch (Obr. 1 a Obr. 2). Na porovnanie sa polyfenoly extrahovali 60 % etanolom vo vode, čo je bežne používané extrakčné činidlo pre polyfenoly.



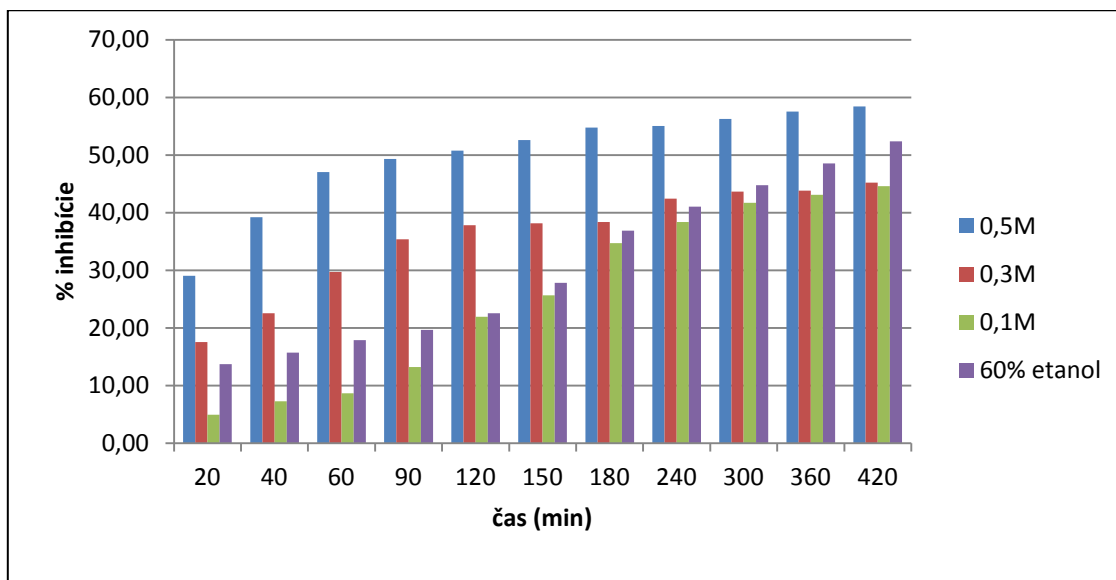
Obr. 1 Rýchlosť difúzie polyfenolov do roztokov s rôznou koncentráciou NaOH a 60 % etanolu (0,1M, 0,3M a 0,5M – koncentrácia NaOH v mol.l⁻¹)

Hydroxid sodný s koncentráciou 0,5 mol.l⁻¹ bol najúčinnnejšie extrakčné činidlo. Po 7h extrakcie mal extrakt najvyšší obsah polyfenolov (6191 mg.l⁻¹) a najvyššiu antioxidačnú aktivitu (59,10 %). So znižovaním koncentrácie NaOH klesala rýchlosť difúzie polyfenolov a antioxidačná aktivita extraktu (Obr. 2). Rýchlosť difúzie polyfenolov do 60 % etanolu je nižšia ako do 0,5 mol.l⁻¹ NaOH ale vyššia ako do 0,3 mol.l⁻¹ NaOH.

Pre sledovanie kinetiky extrakcie vo výrobnom procese nie je nevyhnutné stanovovať obsah polyfenolov. Stačí sledovať zmeny absorbancie pri 280 nm po vhodnom nariadení extraktov. Korelačné koeficienty medzi týmito dvomi parametrami sú vysoké (Tab. 1).

Tab. 1 Korelačné koeficienty medzi obsahom polyfenolov a absorbanciou extraktov pri 280 nm.

koncentrácia NaOH (mol.l ⁻¹)	korelačný koeficient r ²
0,1	0,9233
0,3	0,9974
0,5	0,9926
60 % etanol	0,9816



Obr. 2 Zmena antioxidačnej aktivity počas extrakcie (20-násobné riedenie vzoriek)
0,1M, 0,3M a 0,5M – koncentrácia NaOH v mol.l⁻¹

Komplex polyfenolov získaný extrakciou bol vyžrážaný z extrakčného roztoku prídavkom kyseliny chlorovodíkovej. Vzniknutá zrazenina bola viacnásobne dekantovaná destilovanou vodou, kým premývacia voda nedosiahla hodnotu pH 4,5-4,8. Vodorozpustná forma komplexu sa získala pridaním 25% roztoku hydroxidu amónneho, ktorý sa po 8-10 h odstránil vákuovou destiláciou. Zloženie finálnych produktov je uvedené v Tab. 2.

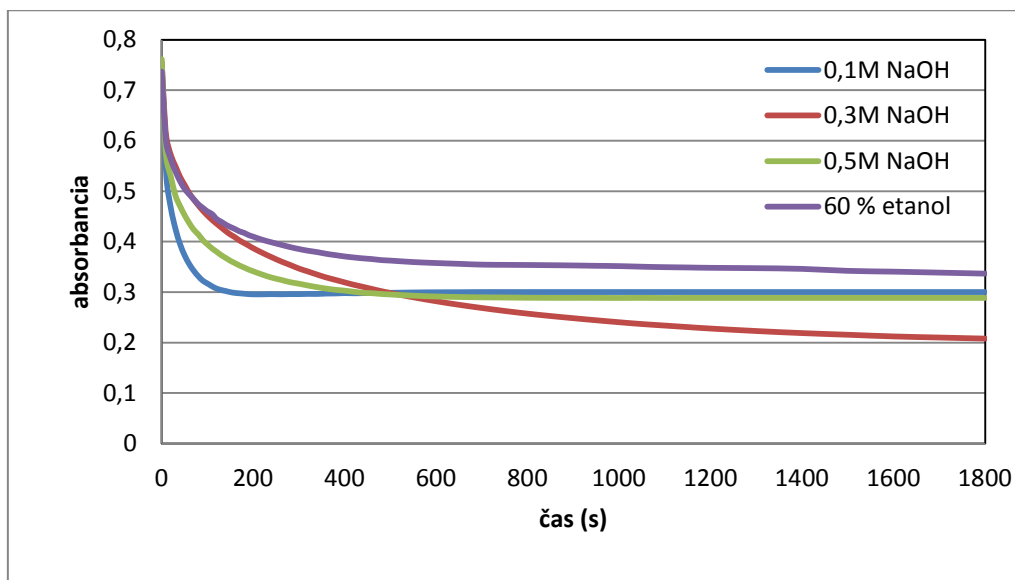
Etanolickej extrakt bol po prefiltrovaní bez ďalšej úpravy zahustený na vákuovej odparke.

Tab. 2 Zloženie koncentrátov polyfenolov

extrakčné činidlo	0,1 M NaOH	0,3 M NaOH	0,5 M NaOH	60 % etanol
sušina (%)	3,95 ± 0,58	4,02 ± 0,61	3,98 ± 0,54	4,11 ± 0,44
polyfenoly (mg.l ⁻¹)	3025 ± 58	3527 ± 47	5147 ± 62	4216 ± 52
pektín (%)	1,76 ± 0,24	2,24 ± 0,31	1,32 ± 0,26	0,87 ± 0,16
antioxidačná aktivita (% inhibície)*	52,69 ± 1,56	72,47 ± 0,98	62,10 ± 1,25	48,24 ± 1,06
%-ny podiel pektín/polyfenoly	5,8 ± 0,7	6,3 ± 0,8	2,6 ± 0,5	2,1 ± 0,3

* 50-násobné riedenie vzoriek (0,1M, 0,3M a 0,5M – koncentrácia NaOH v mol.l⁻¹)

V jednotlivých stupňoch výroby, medziproduktoch a finálnych produktoch sa sledovala antioxidačná aktivita extraktov. Zmeny antioxidačnej aktivity počas extrakcie sú na Obr. 2. Výrazne stúpa aktivita v roztoku NaOH s koncentráciou 0,5 mol.l⁻¹. Po počiatočnom miernom náraste v roztoku s koncentráciou NaOH 0,1 mol.l⁻¹ (8,66% po 1h) postupne dochádzalo k vyrovnaniu hodnôt aktivity v porovnaní s roztokom s koncentráciou 0,3 mol.l⁻¹ (po 7 h 48,68% resp. 49,41%). Antioxidačná aktivita extraktu 60 % etanolom po 7h bola vyššia ako u predchádzajúcich extraktov (52,37 %), ale v procese spracovania na koncentrát poklesla.



Obr. 3 Priebeh eliminácie DPPH radikálu koncentrátmi polyfenolov (50-násobné riedenie vzoriek)

Ako vidieť na Obr. 3, pôsobením tohto koncentrátku dochádza k pozvoľnej eliminácii DPPH radikálu, zatiaľ čo sa reakčná rovnováha pri ostatných koncentrátoch ušľahuje v priebehu 150-200 sekúnd. V tomto prípade antioxidantne pôsobia polyfenoly, ktoré patria medzi pomalé lapače radikálov (Brand-Williams et al. 1995, Sánchez-Moreno et al. 1998).

Uvedeným postupom možno získať koncentráty polyfenolov, ktoré si zachovávajú v procese spracovania vysokú antioxidantnú aktivitu. Táto vlastnosť predurčuje jeho použitie ako výživového doplnku alebo prírodnej aditívnej látky na zvýšenie biologickej hodnoty vybraných druhov potravín

„Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. VMSP-II-0011-09“

Literatúra

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activities. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 1995, 28, 25-30.
- Leifert, W.R., Abeywardena, M.Y. Cardioprotective actions of grape polyphenols. *Nutritional Research*, 2008, 28, 729-737.
- Leifert, W.R., Abeywardena, M.Y. Grape seed and red polyphenol extracts inhibit cellular cholesterol uptake, cell proliferation and 5-lipoxygenase activity. *Nutritional Research*, 2008, 28, 842-850.
- Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. Saura-Calixto, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of Science and Food Agriculture*, 1998, 76, 270-276.
- Singleton, K.W. et al. Inhibition of rat mammary tumorigenesis by concord grape juice constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51, 7280-7286.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M. Analysis of total polyphenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 1999, 299, 152-178.
- Yi, W.G.; Fischer, J.; Akoh, C.C. Study of anticancer activities of muscadine grape phenolics in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53, 8804-8812.
- Xia, E.Q., Deng, G.F., Gou, Y. J., Li, B.H. Biological activities of polyphenols from grape. *International Journal of Molecular Science*, 2010, 11, 622-646.

P 15**MOULD GROWTH ON COOKED/DRIED SAUSAGES**

Rohlík B.A., Pipek P., Šimoniová A.

Department of Food Preservation, Institute of Chemical Technology Prague, Technická 5, 166 28, Praha 6

Mould growth on the surface of cooked/dried sausages was tested to develop a new product. Therefore the noble *Penicillium nalgiovense* was applied on the surface of the sausages and various technological treatments of cooked/dried sausages were tested (smoking, drying, and setup of climate chambers) to define optimal conditions for the mould growth on the sausage surface.

Cooked/dried “VYSOČINA” sausages were produced in a standard way, and individual batches of sausages were produced differently; some sausages were smoked by liquid smoke, and others were not smoked so that anti-fungi agents from the smoke were not present in the sausage. One half of each batch was inoculated directly after production and the second half one week after drying. These operations were reproduced several times in different combinations.

To evaluate mould growth on the surface of the sausages video image analysis (NIS Elements 3.0) was applied and the area fraction of mould growth was measured.

Differences were found only in the dynamics of mould growth. The final mould cover on the surface of various sausage modifications was similar and adequate.

Introduction

The growth of moulds on the surface of sausages should be in most cases considered as a quality defect. The reason for mould growth on the surface of sausages is most often inadequate drying process (incorrect ambient temperature, relative air humidity, possibility of water condensing on the surface) and results in high water activity. Water present inside the sausage gradually diffuses to outer layers and consequently increases the water activity on the surface of the sausage. This makes it an acceptable environment for moulds to grow in [Pipek, 1998].

On the other hand mould growth is a desired quality feature for fermented sausages. The superficial inoculation of the sausage with atoxigenic moulds, e.g. *Penicillium* or *Mucor* species, contributes not only to sensory quality but also a protective character against yeasts [Leroy, 2006].

Cooked/dried “VYSOČINA” sausages were produced in a standard way, and individual batches of sausages were produced divergent; some sausages were smoked by liquid smoke, and others were not smoked so that anti-fungi agents from the smoke are not present in the sausage. One half of each batch was inoculated directly after production and the second half one week after drying. These operations were reproduced several times in different combinations.

To evaluate mould growth on the surface of the sausages video image analysis was applied and the area fraction of mould growth was measured.

Materials and methods

Various technological treatments of cooked/dried sausages (“VYSOČINA”) were tested (smoking, drying, and setup of climate chambers) to define optimal conditions to support mould growth on their surface.

The cooked/dried sausage “VYSOČINA” was produced using lean and fatty pork. After mixing with 2.5% nitrite salt mixture and spices, it was filled into collagenous casings (Ø 55 mm); heat treated up to 70 °C for 10 minutes and then cooled with cold water. Some sausages were smoked during heat treatment and even after cooling. Certain sausages were not smoked at all or were smoked only after heat treatment depending on the technological procedure (see Tab.I).

Mould growth on the surface of cooked/dried sausages was tested to develop a new product. Therefore the noble *Penicillium nalgiovense* was applied on the surface of the sausages and various

technological treatments of cooked/dried sausages were tested (smoking, drying, and setup of climate chambers) to define optimal conditions for the mould growth on the sausage.

After the drying process, which again was dependent on the process, all samples were inoculated with the spores of the cultural mould *Penicillium nalgiovense*. To accelerate and facilitate the moulds growth, the sausages were kept under elevated air humidity (90 – 95%) in a commercial climatic chamber (Maurer).

	Technological process	Sample
1	Liquid smoke, 5 minutes shower, re-smoked	LS5R
2	Liquid smoke, 5 minutes shower, not re-smoked	LS5N
3	Liquid smoke, 10 – 15 minutes shower, re-smoked	LS10R
4	Liquid smoke, 10 – 15 minutes shower, not re-smoked	LS10N
5	No liquid smoke, 5 minutes shower, re-smoked	NLS5R
6	No liquid smoke, 5 minutes shower, not re-smoked	NLS5N

Tab. I: Technological procedures applied on *VYSOČINA* sausage to support mould growth on the surface of the sausages

The pictures of the surfaces of the exposed sausages were taken using a scanner HP Scanjet 5470c under identical orientation during all the experiments. The dynamics of the moulds growth on the surface was evaluated using video image analysis, software NIS–Elements 3.0. The area of mould, which covered the surface of the sausage, was evaluated by applying a suitable threshold.

Results and discussion

Standard sausages “*VYSOČINA*” were inoculated by mould spores (in a suspension) of the noble mould *Penicillium nalgiovense*, ten days after production, and were put into a climate chamber, where the relative air humidity was set at 90 – 95%.

Standard sausages (**LS5R**) are smoked (applying liquid smoke), heat treated up to 70 °C for 10 minutes and then showered with cold water for 5 minutes, which washes out part of the liquid smoke. To ensure that the sausages are all properly smoked (inhibit mould growth on the surface), the sausages are usually put into a smoking chamber where they are re-smoked after cooling (see Tab.I).

It turned out that the noble mould did grow on the surface of the sausage but due to the previous smoking procedure and significantly reduced water activity, during the drying process, its growth was relatively slow. It was therefore decided to modify certain procedures, which might have an influence on the mould growth.

The next step was to decrease the concentration of smoking agents, which of course contain anti fungi substances. To take advantage of the fact that by showering the sausages the smoking agents are washed out, certain sausages were showered for standard 5 minutes and some for 10 minutes, of which some were re-smoked and some not (**LS10R** and **LS10N**); (see Fig.I and Fig.II).

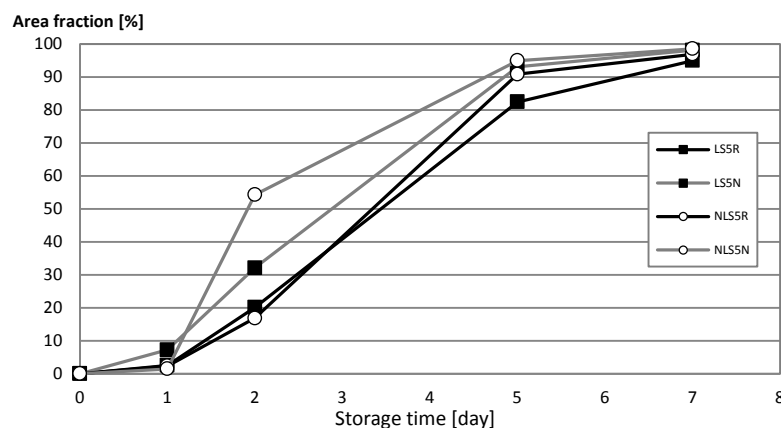


Fig. I: Growth curve of inoculated noble mould *Penicillium nalgiovense* on the surface of *VYSOČINA* treated/not treated with liquid smoke, showered for 5 minutes and re-smoked/not re-smoked

It appears that the moulds grow better on sausages which are less smoked (**LS10N**), so next experimental sausages which have been even less smoked (**NLS5N** and **NLS5R**) were also inoculated to find out whether the moulds will grow faster or not.

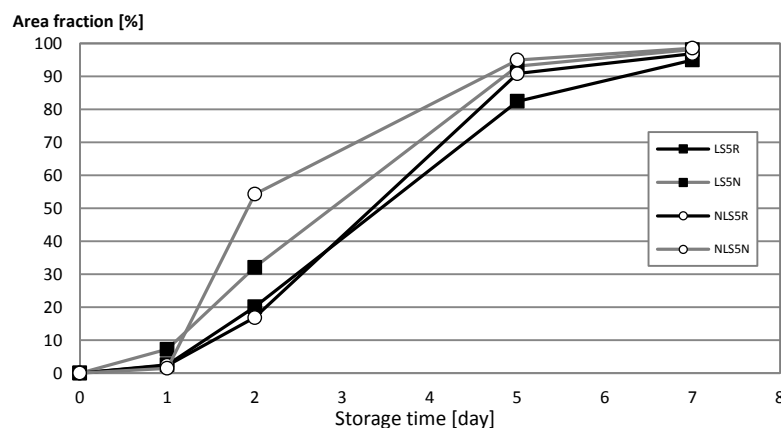


Fig. II: Growth curve of inoculated noble mould *Penicillium nalgiovense* on the surface of *VYSOČINA* treated/not treated with liquid smoke, showered for 5 minutes and re-smoked/not re-smoked

Although the results showed that the mould grows better on sausages which are less smoked or even not treated with smoke at all (**NLS5N**), the decisive criterion for mould growth was the re-smoking phase. Sausages which were re-smoked after showering showed to have slower mould growth on their surface; though, the mould grew on all sausages and completely covered their surface in seven days. Therefore in terms of practise the initial treatment of the sausage (smoking, drying) is not crucial, but the ambient conditions in the chamber after inoculation are decisive for the mould growth.

Conclusions

Video image analysis enabled to measure the mould growth on the surface of the tested sausages without damaging the structure of the sausage.

Based on the measured results it is obvious that mould growth on the surface of cooked/dried sausage is dependent on several factors, especially on technological processes such as smoking and drying.

Results showed that mould growth on the surface of the sausages is suppressed by liquid smoke, since the present anti-fungi agents inhibit the growth. It was further found that the optimal water activity of the sausage surface is also essential for the growth.

Acknowledgement

The project was financially supported by SZIF No. 11/012/11320/780/000547

References

- Leroy, F.; Verluyten, J.; De Vuyst, L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* **2006**, *106*, 270–285.
- Pipek, P. *Technologie masa II*, 1st ed.; Karmelitánské nakladatelství: Praha, 1998
- Pipek, P.; Lojková, A.; Bělková, B.; Staruch, L. Analýza obrazu při hodnocení kvality masa a masných výrobků. In *Zborník prednáškových a posterových príspevkov*, XVI. Medzinárodnej konferencie LABORALIM 2007 o analytických metódach v potravinárstve, v súlade s harmonizáciou legislatívy EÚ . 7.-8.2.2007; Staruch, L., Banská Bystrica; 2007; pp 16–21
- Pipek, P.; Rohlík, B.-A.; Lojková, A.; Staruch, L. Suppression of Mould Growth on Dry Sausages. *Czech Journal of Food Sciences* **2010**, *28* (4), 258–263.
- Stark, J. Permitted Preservatives – Natamycin. In *Encyclopedia of Food Microbiology*, 1st ed.; Robinson, R. K., Ed.; Elsevier: Oxford, 1999; pp 1776–1781.
- Stiebing, A.; Oberhaus, T.; Baumgart, J. Verhinderung des Schimmelpilzwachstums bei Rohwurst. *Fleischwirtschaft* **2001**, *81* (8), 97–100.

P 16**POTENCIÁL HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE PRO RYCHLÝ MONITORING BIOGENNÍCH AMINŮ A DALŠÍCH MARKERŮ JAKOSTI MASA A RYB**

Daňhelová H., Hradecký J., Přinosilová Š., Moravcová E., Bělková B., Čajka T., Riddellová K., Hajšlová J.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

ABSTRAKT

Nezpracované maso je komodita velmi citlivá na způsob skladování. Následkem nesprávného zacházení může dojít k vzniku nejen senzoricky negativně vnímaných látek, ale také k rozvoji mikrobiální kontaminace, jejíž produkty představují vážné riziko pro zdraví konzumentů. Prezentovaná práce je zaměřena na metody monitoringu kvality masa v závislosti na podmínkách skladování. Pro tento účel byl testován potenciál nové techniky hmotnostní spektrometrie v otevřeném prostoru s iontovým zdrojem pro přímou analýzu v reálném čase ve spojení s hmotnostním spektrometrem (DART–MS) pro stanovení biogenních aminů a dále pro identifikaci dalších markerů kvality masa a svaloviny ryb. Obsah biogenních aminů byl následně také kvantifikován prostřednictvím hydrofilní interakční chromatografie (HILIC) ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (UHPLC–MS). Pro srovnání profilů těkavých látek byla použita metoda head-space mikroextrakce tuhou fází ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostně spektrometrickou detekcí využívající analyzátor doby letu (HS–SPME–GC–TOFMS).

P 17**ZMĚNY RYBÍHO TUKU V ZÁVISLOSTI NA INTRAVITÁLNÍCH VLIVECH**

Trnková J., Prokůpková L.

Katedra kvality zemědělských produktů, Česká zemědělská univerzita v Praze

ABSTRAKT

Příspěvek se zabývá složením rybího masa a sledováním změn množství a kvality tuku vybraných sladkovodních ryb (kapr obecný a pstruh duhový) v průběhu roku, což je značně závislé na mnoha intravitálně působících faktorech, především druhu ryby, ročním období, pohlaví a stádiu pohlavního cyklu, věku, vodním prostředí apod.

Celkem v patnácti analýzách, které po sobě následovaly v třítydenních intervalech v období od 12.4. 2010 do 15.3. 2011, byly použity pro vytvoření průměrného vzorku pro každé měření vždy 3 celé kusy kapra a 3 celé kusy pstruha. Tyto ryby byly zakoupeny v lahovických sádkách v Praze, které jsou provozované společností FISH MARKET a.s.

U jednotlivých kusů ryb byla zjišťována výtěžnost a následně u získaných vzorků bylo změřeno pH a byl proveden základní rozbor, a to stanovení obsahu vody, tuku a bílkovin. Byla také sledována přítomnost a zastoupení jednotlivých mastných kyselin.

V tuku sledovaných druhů ryb bylo zaznamenáno mezidruhové i vnitrodruhové kolísání v zastoupení jednotlivých mastných kyselin i skupin vyšších mastných kyselin, které může být způsobeno četnými faktory (typ vodního prostředí, podmínky chovu, složení rybí obsádky, roční období, trofická hlediska, druh, pohlaví, věk a krmný režim).

Sezónní změny ve složení jednotlivých mastných kyselin u vybraných druhů sladkovodních ryb nebyly prokázány, až na kyselinu olejovou.

P 18**SOUČASNÉ SLOŽENÍ VEPŘOVÉHO SÁDLA**

Šimoniová A., Potůček T., Rohlík B.-A., Pipek P.

Ústav konzervace potravin, VŠCHT v Praze, Technická 5, 166 28, Praha 6 - Dejvice

Abstrakt

Složení mastných kyselin ve vepřovém sádle se v průběhu desetiletí postupně mění, zvyšuje se podíl nenasycených mastných kyselin. V důsledku nákupu suroviny v rámci celé Evropské unie se ke zpracovatelům dostává sádlo rozdílného složení a následně i rozdílných technologických vlastností. Tyto vlastnosti ovlivňují technologické procesy výroby masných výrobků, zejména trvanlivých salámů.

Z hlediska technologie se tuková tkáň prasat podle anatomického umístění dělí na V7 (hřbetní sádlo), V8 (sádlo z vnější strany kýty), V9 (sádlo z plecí) a V10 (sádlo z vnitřní strany kýty). Pro posouzení jeho kvality bylo analyzováno složení mastných kyselin jak z těchto různých anatomických částí, tak od různých dodavatelů, reprezentativní vzorky byly vždy odebrány za celou dodávku. Podíl jednotlivých mastných kyselin byl hodnocen po methylaci pomocí plynové chromatografie.

Byl zjištěn vysoký obsah nenasycených mastných kyselin (>60 %); rozdíly byly v podílu polyenových mastných kyselin nalezeny jak mezi dodavateli, tak i v závislosti na anatomickém umístění zkoumané tukové tkáně. Převažující mastnou kyselinou byla kyselina olejová (~ 45 %), největší rozdíly (až 8 %) v závislosti na dodavateli byly zjištěny v obsahu kyseliny linolové.

Úvod

Kvalita tukové tkáně se v poslední době ukazuje jako zásadní z hlediska technologických vlastností při výrobě masných výrobků, zejména trvanlivých salámů. V důsledku změny plemenné skladby, způsobu výkrmu, složení krmiv, věku zvířat a dalších vlivů v minulých desetiletích, se obecně objevuje měkký tuk, který působí velké problémy. Pevnost tukové tkáně souvisí s obsahem nenasycených mastných kyselin, který vzhledem k výše uvedeným vlivům roste. Podrobná rešerše (Franco et al. 2006; Wood et al. 2008) ukazuje rozdílné složení a detailní vlivy na toto složení. Tuková tkáň, samotná či jako součást JUT, se dováží od různých dodavatelů z různých klimatických oblastí a liší se ve svém složení. Není možné přitom kontrolovat jednotlivé kousky tkáně, nýbrž je třeba znát průměrné hodnoty z celých dodávek.

Rozdílné je i složení tukové tkáně v jednotlivých částech JUT. Z hlediska technologie se tuková tkáň prasat podle anatomického umístění dělí na V7 (hřbetní sádlo), V8 (sádlo z vnější strany kýty), V9 (sádlo z plecí) a V10 (sádlo z vnitřní strany kýty). Jednotlivé tyto části se liší nejen podílem tuku, bílkovin a případně i zbytků svaloviny, ale i složením mastných kyselin a samozřejmě i technologickými vlastnostmi: pevnost, teplota tání.

V současné době se k hodnocení složení tukové tkáně prasat využívá zejména plynová chromatografie (např. Ficara et al. 2010), zkouší se i využití Ramanových spekter on line (Olsen et al. 2007).

Materiál a metody

Ve spolupráci s MP Krásno, a.s. byla vypracována metodika odběru vzorků tak, aby naměřené hodnoty složení tuku představovaly průměrné hodnoty za celou dodávku (tou je několik tun masa značně nehomogenního složení). Tuková tkáň se sice v podniku třídí podle anatomického umístění na V7 (hřbetní sádlo), V8 (sádlo z vnější strany kýty), V9 (sádlo z plecí) a V10 (sádlo z vnitřní strany kýty), není však možné hodnotit jeho vlastnosti.

Z celé dodávky (kamion) byly v průběhu bourání sbírány vzorky tukové tkáně, které byly následně homogenizovány na kutru přímo ve výrobním podniku a reprezentativní vzorek byl analyzován na VŠCHT Praha.

Metoda měření:

Vzorek sádla byl ihned po přivezení do laboratoře zpracován. Z dodaného množství homogenátu byl kvartací odebrán reprezentativní vzorek tuku a po rozpuštění a methylaci hodnocen na plynovém chromatografu: izolovaný tuk byl podroben kyselé hydrolýze a uvolněné mastné kyseliny byly převedeny na těkavé methylestery. Identifikace a stanovení mastných kyselin proběhlo pomocí plynového chromatografu vybaveného plamenově ionizačním detektorem za následujících podmínek: *Kolona*: DB WAX, 100m x 0,25 mm I.D., 0,25 mm; *Mobilní fáze*: helium 0,6 ml/s; *Průtok*: 40 ml/s; *Nastřikovaný objem*: 1 ml; *Detektor*: FID; *Teplota detektoru*: 300°C; *Teplota nástřiku*: 250 °C, split 1:1; *Teplota kolony*: program 60°C 2 min, 60°- 250°C, 10°C/min, 250°C 8 minut.

Záznam chromatogramů byl vyhodnocen pomocí chromatografické stanice HP Chemstation. Mastné kyseliny byly identifikovány porovnáním retenčních časů píků mastných kyselin s retenčními časy píků standardní směsi mastných kyselin (SupelcoTM 37 Component FAME Mix). Byly tak získány koncentrace jednotlivých mastných kyselin s počtem uhlíků 8 – 20 a následně vypočteny celkové podíly nasycených, nenasycených a polyenových kyselin. Podle těchto obsahů byly srovnány jednotlivé vzorky tukové tkáně podle dodavatelů a podle anatomického umístění.

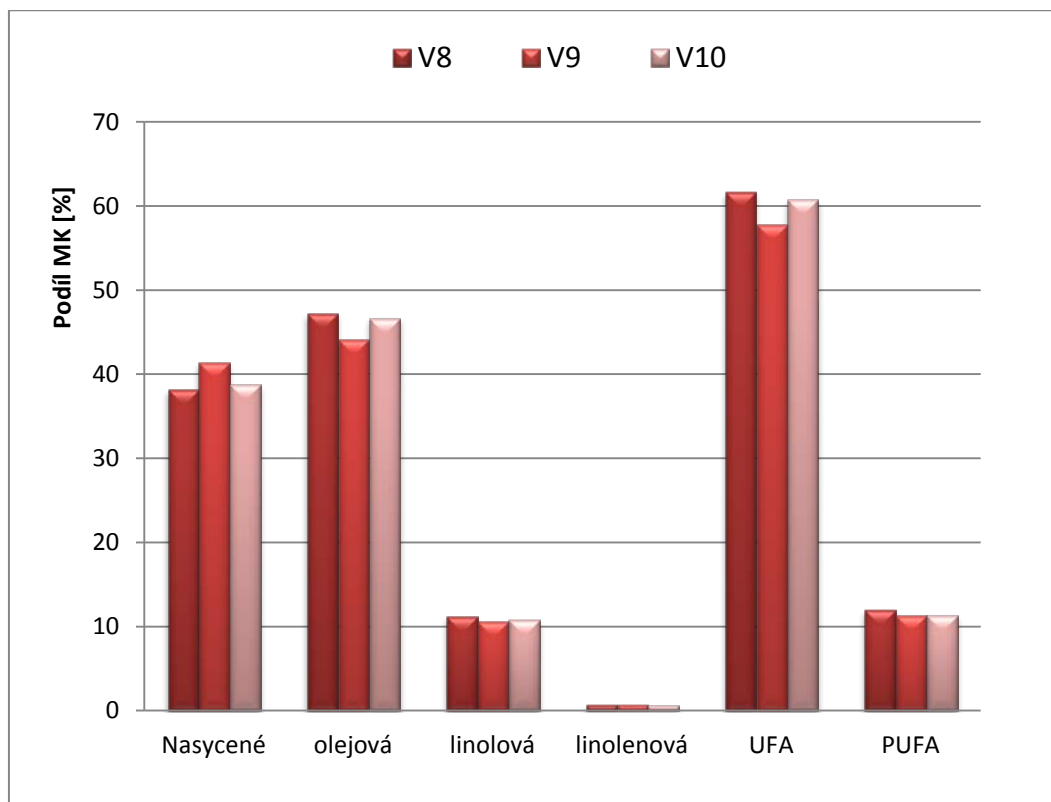
Výsledky a diskuse

Uvedená metodika odběru vzorků se osvědčila a byl získán přehled o složení tuků, který umožňuje výrobcí výběr vhodné suroviny. Naměřené hodnoty složení jednotlivých vzorků tukové tkáně jsou patrné z následujících tabulek a grafů.

Sledování ukázalo, že obsahy nenasycených mastných kyselin v tukové tkáni získávané z dodávaného masa jsou vyšší, než v minulosti uváděné, a potvrdil se tak výše uvedený trend změny složení vepřového tuku. Celkový obsah nenasycených mastných kyselin přesahoval 60 %, přičemž sice převažovala kyselina olejová (kolem 45 %), byl však patrný vysoký podíl kyseliny linolové i nezanedbatelný podíl kyseliny linolenové.

Rozdíly mezi jednotlivými typy tukové tkáně podle umístění se neukázaly statisticky významné, a byly překryty dalšími vlivy. Zejména u kyseliny linolové, která bývá považována za významnou z hlediska technologických vlastností tukové tkáně, byly tyto rozdíly mezi jednotlivými typy tukové tkáně malé.

Rozdíly mezi jednotlivými dodavateli byly jak z hlediska celkového obsahu nasycených, resp. nenasycených mastných kyselin, tak i v obsahu polyenových kyselin, tj. linolové a linolenové kyseliny. Podíly všech nenasycených mastných kyselin mezi jednotlivými dodavateli se lišily v rozmezí 4 %. Naproti tomu obsahy zmíněné kyseliny linolové kolísaly v rozsahu dvojnásobném, u jednoho dodavatele dosahovaly 16 %. Podobné nálezy uvádí i Franco et al. (2006), naproti tomu Hansen et al. (2004) našel hodnoty podstatně nižší. Literární údaje se však značně liší v závislosti na řadě vlivů.



Všechna sádla dohromady - srovnáno podle podílu nasycených mastných kyselin

Dodavatel	kaprylová C	kaprinová C	laurová C	myristová C	palmitová C	stearová C	arachová C	SFA	palmitolejová C	olejová C	linolová C	linolenová C	UFA	PUFA
Vestey	0,118	0,151	0,176	1,678	24,853	9,842	0,934	37,58	2,38	46,33	12,62	0,80	62,22	13,42
Inpost	0,079	0,063	0,105	1,538	24,490	11,017	0,669	37,51	3,07	48,43	9,45	0,65	61,61	10,10
Rivasan	0,107	0,160	0,366	2,112	24,946	10,254	0,912	38,49	1,98	47,85	11,02	0,66	61,51	11,68
West Fleisch	0,052	0,064	0,101	1,448	25,225	11,346	0,944	38,70	2,21	47,47	10,99	0,61	61,28	11,61
Danish Crown	0,074	0,081	0,073	1,362	25,450	12,255	0,675	39,82	2,82	46,79	9,87	0,70	60,18	10,57
Jutland	0,029	0,057	0,078	1,409	25,474	12,321	0,627	39,98	2,84	47,93	8,57	0,80	60,13	9,37
BERNARD	0,037	0,079	0,076	1,459	25,120	12,063		38,74	2,48	44,08	12,74	0,67	59,97	13,41
Tonnies Fleisch	0,068	0,046	0,198	1,300	25,032	13,452	0,589	40,67	2,19	47,37	9,23	0,68	59,47	9,91
Delvia	0,232	0,343	0,166	1,846	26,283	10,945	0,734	40,55	2,13	44,79	11,83	0,70	59,45	12,53
R. Thomsen		0,058	0,059	1,401	25,829	12,397	0,872	40,62	2,66	45,80	10,01	0,79	59,26	10,81

Jen sádlo z kýt - srovnáno podle podílu nasycených mastných kyselin

Dodavatel	kaprylová C	kaprinová C	laurová C	myristová C	palmitová C	stearová C	arachová C	SFA	palmitolejová C	olejová C	linolová C	linolenová C	UFA	PUFA
Vestey	0,069	0,058	0,077	1,346	22,826	10,880	0,777	36,03	2,47	44,91	15,90	0,69	63,97	16,59
Inpost	0,120	0,146	0,185	1,698	24,540	10,030	0,898	37,43	2,31	46,63	12,49	0,81	62,35	13,30
Rivasan	0,037	0,079	0,076	1,488	24,991	11,326		38,00	1,98	45,46	13,99	0,58	62,01	14,57
West Fleisch	0,079	0,063	0,105	1,538	24,490	11,017	0,669	37,51	3,07	48,43	9,45	0,65	61,61	10,10
Danish Crown	0,107	0,160	0,366	2,112	24,946	10,254	0,912	38,49	1,98	47,85	11,02	0,66	61,51	11,68
Jutland	0,052	0,064	0,101	1,448	25,225	11,346	0,944	38,70	2,21	47,47	10,99	0,61	61,28	11,61
BERNARD	0,074	0,081	0,073	1,362	25,450	12,255	0,675	39,82	2,82	46,79	9,87	0,70	60,18	10,57
Tonnies Fleisch	0,029	0,057	0,078	1,409	25,474	12,321	0,627	39,98	2,84	47,93	8,57	0,80	60,13	9,37
Delvia	0,068	0,046	0,198	1,300	25,032	13,452	0,589	40,67	2,19	47,37	9,23	0,68	59,47	9,91
R. Thomsen		0,058	0,059	1,401	25,829	12,397	0,872	40,62	2,66	45,80	10,01	0,79	59,26	10,81

Všechna sádla dohromady - - srovnáno podle podílu polyenových kyselin

Dodavatel	kaprylová	kaprinová	laurová	myristová	palmitová	stearová	arachová	SFA	palmitolejová	olejová	linolová	linolenová	UFA	PUFA
Vestey	0,118	0,151	0,176	1,678	24,853	9,842	0,934	37,58	2,38	46,33	12,62	0,80	62,22	13,42
Bernard	0,037	0,079	0,076	1,459	25,120	12,063		38,74	2,48	44,08	12,74	0,67	59,97	13,41
Delvia	0,232	0,343	0,166	1,846	26,283	10,945	0,734	40,55	2,13	44,79	11,83	0,70	59,45	12,53
Rivasan	0,107	0,160	0,366	2,112	24,946	10,254	0,912	38,49	1,98	47,85	11,02	0,66	61,51	11,68
West Fleisch	0,052	0,064	0,101	1,448	25,225	11,346	0,944	38,70	2,21	47,47	10,99	0,61	61,28	11,61
R. Thomsen		0,058	0,059	1,401	25,829	12,397	0,872	40,62	2,66	45,80	10,01	0,79	59,26	10,81
Danish Crown	0,074	0,081	0,073	1,362	25,450	12,255	0,675	39,82	2,82	46,79	9,87	0,70	60,18	10,57
Inpost	0,079	0,063	0,105	1,538	24,490	11,017	0,669	37,51	3,07	48,43	9,45	0,65	61,61	10,10
Tonnies Fleisch	0,068	0,046	0,198	1,300	25,032	13,452	0,589	40,67	2,19	47,37	9,23	0,68	59,47	9,91
Jutland	0,029	0,057	0,078	1,409	25,474	12,321	0,627	39,98	2,84	47,93	8,57	0,80	60,13	9,37

Jen sádlo z kýtl - - srovnáno podle podílu polyenových kyselin

Dodavatel	kaprylová	kaprinová	laurová	myristová	palmitová	stearová	arachová	SFA	palmitolejová	olejová	linolová	linolenová	UFA	PUFA
Vestey	0,069	0,058	0,077	1,346	22,826	10,880	0,777	36,03	2,47	44,91	15,90	0,69	63,97	16,59
Rivasan	0,037	0,079	0,076	1,488	24,991	11,326		38,00	1,98	45,46	13,99	0,58	62,01	14,57
Inpost	0,120	0,146	0,185	1,698	24,540	10,030	0,898	37,43	2,31	46,63	12,49	0,81	62,35	13,30
Danish Crown	0,107	0,160	0,366	2,112	24,946	10,254	0,912	38,49	1,98	47,85	11,02	0,66	61,51	11,68
Jutland	0,052	0,064	0,101	1,448	25,225	11,346	0,944	38,70	2,21	47,47	10,99	0,61	61,28	11,61
R. Thomsen		0,058	0,059	1,401	25,829	12,397	0,872	40,62	2,66	45,80	10,01	0,79	59,26	10,81
BERNARD	0,074	0,081	0,073	1,362	25,450	12,255	0,675	39,82	2,82	46,79	9,87	0,70	60,18	10,57
West Fleisch	0,079	0,063	0,105	1,538	24,490	11,017	0,669	37,51	3,07	48,43	9,45	0,65	61,61	10,10
Delvia	0,068	0,046	0,198	1,300	25,032	13,452	0,589	40,67	2,19	47,37	9,23	0,68	59,47	9,91
Tonnies Fleisch	0,029	0,057	0,078	1,409	25,474	12,321	0,627	39,98	2,84	47,93	8,57	0,80	60,13	9,37

Závěr

Uvedenou metodikou se podařilo zhodnotit surovinu (tuková tkáň) dodávanou z různých částí Evropy a vybrat pro další využití při výrobě zejména trvanlivých masných výrobků vhodné dodavatele. Obsah nenasycených mastných kyselin u všech vzorků přesahoval 60 %, podíl polyenových kyselin činil 10-16 %. Sběr dat pokračuje i nadále.

Literatura:

Ficarra, A. – Lo Fiego, P. D. – Minelli, G. – Antonelli, A.: Ultra fast analysis of subcutaneous pork fat, 2010, Food Chemistry, **121**, 809 – 814.

Franco, I. – Escamilla, M. C. – Garcia, J. – Fontán, M. C. G. – Carballo, J.: Fatty acid profile of the fat from Celta pig breed fattened using a traditional feed: Effect of the location in the carcass. 2006, Journal of Food Composition and Analysis, **19**, 792 – 799.

Hansen, E. - Lauridsen, L - Skibsted, L. H. - Moawad, R. K. - Andersen, M. L.: Oxidative stability of frozen pork patties: Effect of fluctuating temperature on lipid oxidation, 2004, Meat Science **68**, 185 – 191.

Olsen, E. F. – Rukke, E.-O. – Flatten, A. Isaksson, T.: Quantitative determination of saturated-, monounsaturated- and polyunsaturated fatty acids in pork adipose tissue with non-destructive Raman spectroscopy, 2007, Meat Science **76**, 628 – 634.

Wood J. D. - Enser M. - Fisher A. V. - Nute G. R. - Sheard P. R. - Richardson R. I. - Hughes S. I. - Whittington F. M.: 2008, Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review, Meat Science **78**, 343-358.

P 19**MOŽNOSTI POUŽITÍ NĚKTERÝCH ROSTLIN ČELEDI APIACEAE KE STABILIZACI TUKŮ PROTI OXIDACI**Roubíčková I.¹, Chrpová D.^{1, 2}, Doležal M.¹, Kouřimská L.³, Pánek J.¹¹⁾ Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6²⁾ Vyšší odborná škola zdravotnická a Střední zdravotnická škola (VOŠZ a SZŠ) 5. května, Praha³⁾ Katedra kvality zemědělských produktů, ČZU Praha**Úvod:**

Tuky a potraviny obsahující tuk, zejména s vyšším obsahem nenasycených mastných kyselin jsou během jejich skladování a kulinární úpravy více náchylné k oxidaci. Během oxidace mastných kyselin se tvoří volné radikály a další produkty. Tyto produkty negativně ovlivňují senzorickou a technologickou jakost tuku a mohou snížit výživovou hodnotu a bezpečnost tuku. Účinnou cestou ke snížení rychlosti nástupu oxidace je používání antioxidantů (Frankel 1996; Frankel 2005; Pourmorad a kol. 2006). Byliny se od dávných dob používají nejen v kuchyni (pro své aromatické vlastnosti), ale i v medicíně nebo v kosmetice (Daly a kol. 2010).

Listy koriandru (*Coriandrum sativum* L.) jsou zdrojem hydrofilních (askorbová kyselina, fenoly) a lipofilních (tokoferoly, β -karoten, lykopen) antioxidantů (Almeida Melo a kol. 2005; Dias a kol. 2011) z nichž nejaktivnějšími antioxidanty jsou látky se střední polaritou. Majoritní složkou silice ze semen koriandru byl linalool (Wangensteen a kol. 2004). Ethanolový extrakt kmínu (*Carum carvi* L.) obsahoval protokatechuovou, kávovou, chlorogenovou a rosmarinovou kyselinu a rutin, přičemž nejvíce zastoupenými byli kávová kyselina a rutin. Po hydrolýze tohoto extraktu byly identifikovány ferulová kyselina, kvercetin a kemferol. Majoritními zástupci byli kemferol a kvercetin (Misan a kol. 2011). Silice kmínu (asi 1-9%) obsahuje okolo 30 sloučenin, z nichž největší podíl (asi 95%) tvoří karvon a limonen (Sedláková a kol. 2003; Seidler-Lozykowska a kol. 2010). Nejaktivnějšími složkami silice kmínu byly *trans*-anethol, karveol a jeho isomery (Samojlik a kol. 2010). Ethanolový extrakt petržele (*Petroselinum crispum*) obsahoval gallovou, protokatechuovou, kávovou a skořicovou kyselinu, luteolin, kemferol a apigenin. Po jeho hydrolýze byl identifikován také kvercetin (Misan a kol. 2011). V listech a stoncích celeru byly identifikovány fenolové kyseliny (kávová, ferulová a *p*-kumarová) a flavonoidy (apigenin, luteolin a kemferol). Majoritními zástupci byly *p*-kumarová kyselina, apigenin a luteolin (Crozier a kol. 1997; Míčan & Mohamed 2001; Yao a kol. 2010). Kopr je zdrojem askorbové kyseliny, karotenoidů a fenolových sloučenin (Lisiewska a kol. 2006).

Cílem práce bylo posoudit možnost stabilizace tuků proti oxidaci pomocí vybraných bylin čeledi *Apiaceae*.

Materiál a metody:**Byliny**

Čerstvý celer, listy a bulva (*Apium graveolens* L.) a bazalka (*Ocimum basilicum*; *Lamiaceae*) byly zakoupeny v pražské maloobchodní síti. Listy celeru a bazalky byly sušeny ve větrané místnosti při teplotě okolí. Petržel (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nymax ex A.W. Hill) byly pěstovány na experimentálním poli České Zemědělské university v Praze. Používaly se listy hladké a kadeřavé petržele v čerstvé a sušené formě. Listy koriandru (*Coriandrum sativum* L.) a kopru (*Anethum graveolens* L.) byly pěstovány na soukromém pozemku v lokalitě Kolínsko. Listy byly sbírány před květem počátkem července 2011 a sušeny ve větrané místnosti při teplotě okolí. Drcený kmín (*Carum carvi* L.) byl zakoupen v pražské maloobchodní síti (Vitana s.r.o.; minimální trvanlivost 8/2013).

Sádlo

Vepřové sádlo bylo zakoupeno v pražské maloobchodní síti (Masokombinát Plzeň, trvanlivost do 2/2012). Kvalitativní parametry vepřového sádla jsou shrnuty v tabulce č. 1.

Tab. 1 Kvalitativní parametry čerstvého vepřového sádla

Σ nasycené MK (%)	50,7
Σ monoenové MK (%)	37,9
Σ polyenové MK (%)	11,4
Peroxidové číslo (mekv. kyslíku / 1 kg)	0,9
Číslo kyselosti (mg KOH/1 g)	1,2
Celkový obsah konjugovaných dienů (%)	0,2
Celkový obsah oxidačních produktů HPLC (%)	1,1
Celkový obsah polymerních TAG (%)	pod mezí detekce

Oxidační stabilita stanovená pomocí Schaalova testu:

Princip metody je založen na gravimetrickém sledování oxidace tuku v 2 mm nebo 20 mm vrstvě tuku za volného přístupu vzduchu (kyslíku) ve tmě za mírně zvýšené teploty (Rossell 1994; Velasco & Dobarganes 2002; Yanishlieva & Marinova 2001).

Změny hmotnosti se sledovaly ve 2 paralelních stanoveních v sádle bez přídavku antioxidantů a v sádle s přídavkem α -tokoferolu, bylin čeledi *Apiaceae* nebo jejich vodných nebo diethyletherových extraktů. Koncentrace α -tokoferolu byla 1000 mg/1 kg sádla. Koncentrace sušených bylin čeledi *Apiaceae* použitých do sádla v uspořádání v 20 mm vrstvě bez jejich extrakce byla 50 g kopru, 80 g petržele (hladké i kadeřavé) a 100 g kmínu/1 kg sádla a koncentrace čerstvé petržele (hladké i kadeřavé) 80 g/1 kg sádla. Koncentrace sušených bylin čeledi *Apiaceae* ve formě extraktů byly v uspořádání v 2 mm vrstvě 100 g/1 kg sádla a v případě bazalky 50 g /1 kg sádla a koncentrace čerstvých bylin čeledi *Apiaceae* a bazalky ve formě extraktů 500 g/1 kg sádla.

Indukční perioda (IP) se vypočítala lineární regresí pomocí softwaru MS Excel.

Proteční faktor (PF) se vypočítal podle vztahu: $PF = IP_{AOX}/IP_0$

IP_{AOX} ... indukční perioda sádla s přídavkem antioxidantů (α -tokoferolu, byliny, extraktu byliny)

IP_0 ... indukční perioda sádla bez přídavku antioxidantů

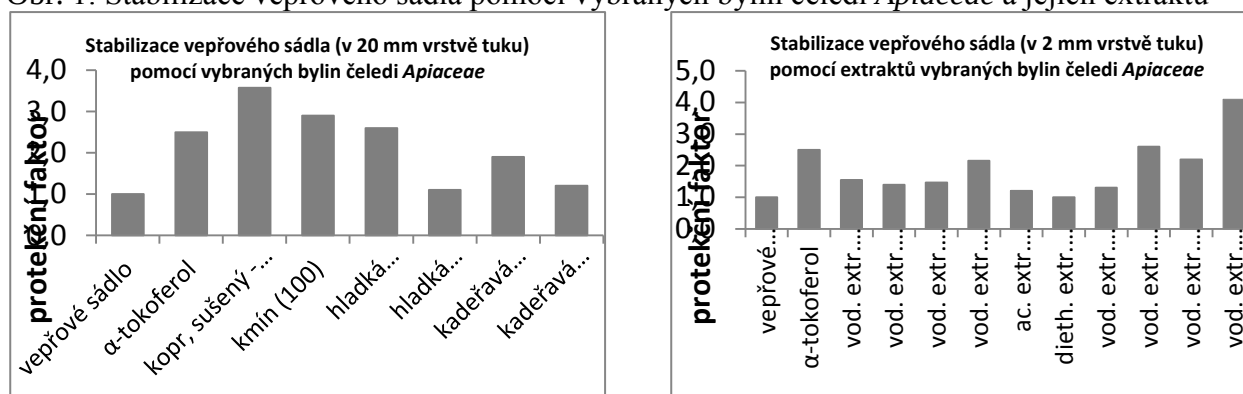
Výsledky a diskuze:

Vepřové sádlo bylo zvoleno jako vhodný materiál díky absenci antioxidantů, které by mohly ovlivňovat výsledky případnými synergistickými účinky s použitými antioxidanty. Zvýšená teplota byla použita z důvodu dosažení výsledků v reálném čase.

1. fáze oxidace se nazývá indukční perioda, během které dochází pouze k malému nárůstu obsahu hydroperoxidů. Na konci indukční periody se antioxidanty vyčerpají a dochází prudkému nárůstu obsahu hydroperoxidů. Tato fáze je spojena s nárůstem hmotnosti a ztrátou kvality tuku. Aktivita antioxidantů v tuku se vyjadřuje jako proteční faktor (Chrpová a kol. 2010).

Sušené listy kopru, kmín a vodný extrakt listů koriandru vykazoval lepší nebo srovnatelnou antioxidační aktivitu jako α -tokoferol. Vodný extrakt kopru měl mírně horší antioxidační aktivitu než α -tokoferol. Antioxidační aktivita vodných extraktů celeru (čerstvého i sušeného) a kmínu a acetonového a diethyletherového extraktu sušených listů kopru byla zanedbatelná (viz obr. č. 1).

Naproti tomu, Singh a kol. (2005) publikovali, že acetonový extrakt kmínu (*Anethum graveolens* L.) inhiboval autooxidaci řepkového oleje. Hlavními složkami tohoto extraktu byly apiol a *trans*-anethol.

Obr. 1: Stabilizace vepřového sádla pomocí vybraných bylin čeledi *Apiaceae* a jejich extraktů

Pro porovnání byly zařazeny vzorky čerstvé a sušené bazalky (*Lamiaceae*). Vodný extrakt sušené bazalky ukázal mírně horší antioxidační aktivitu než α -tokoferol. Oproti předchozí studii (Chrpová a kol. (2010)) měl vodný extrakt sušené bazalky velmi dobrou antioxidační aktivitu, výrazně lepší než α -tokoferol.

Závěry:

Antioxidační aktivita vybraných bylin čeledi *Apiaceae* ve vepřovém sádle byla velmi různorodá. Sušený kopr, kmín a vodný extrakt sušených listů koriandru měly lepší nebo srovnatelnou antioxidační aktivitu jako α -tokoferol. Vodný extrakt kopru měl mírně horší antioxidační aktivitu než α -tokoferol. Antioxidační aktivita vodných extraktů celeru (listů i bulvy) a kmínu a acetonového a diethyletherového extraktu kopru byla bezvýznamná.

Literatura

- ALMEIDA MELO, E. de – MANCINI FILHO, J. – BARBOSA GUERRA, N.: Characterization of antioxidant compounds in aqueous coriander extract (*Coriander sativum* L.). *LWT - Food Science and Technology*, 38, 2005: 15-19.
- BRAND-WILLIAMS, W. – CUVELIER, M. E. – BERSET, C.: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28, 1995: 25-30.
- CHOOCHOTE, W. – TUETUN, B. – KANJANAPOTHI, D. – RATTANACHANPICHAI, E. – CHAITHONG, U. – CHAIWONG, P. – JITPAKDI, A. – TIPPAWANGKOSOL, P. – RIYONG, D. – PITASAWAT, B.: Potential of crude extract of celery, *Apium graveolens* L., against the mosquito *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology*, 2004:340-346.
- CHRPVÁ, D. – KOUŘIMSKÁ, L. – GORDON, M.H. – HEŘMANOVÁ, V. – ROUBÍČKOVÁ, I. – PÁNEK, J.: Antioxidant activity of selected phenols and herbs used in diets for medical conditions. *Czech Journal of Food Sciences*, 28(4), 2010: 317-325.
- CROZIER, A. – JENSEN, E. – LEAN, M.E.J. – MC DONALD, M.S.: Quantitative analysis of flavonoids by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 761, 1997: 315-321.
- DALY, T. – JIWAN, M.A. – O'BRIAN, N.M. – AHERNE, S.A.: Carotenoid content of commonly consumed herbs and Assessment of their bioaccessibility using an *In vitro* digestion model. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65, 2010: 164-169.
- DIAS, M.I. – BARROS, L. – SOUZA, M.J. – FERREIRA, I.C.F.R.: Comparative Study of Lipophilic and Hydrophilic Antioxidants from *In vivo* and *In vitro* Grown *Coriandrum sativum*. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66, 2011: 181-186.
- DORMAN, H.J.D. – PELTOKETO, A. – HILTUNEN, R. – TIKKANEN M.J.: Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected *Lamiaceae* herbs. *Food Chemistry*, 83, 2003: 255–262.

- FARHAT, M. B. – JORDÁN, M. J. – CHAOUECH-HAMADA, R. – LANDOULSI, A. – SOTOMAYOR, J. A.: Variations in essential oil, phenolic compounds and antioxidant activity of Tunisian cultivated *Salvia officinalis* L.. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 2009: 10349-10356.
- FRANKEL, E.N.: Antioxidants in lipid food and their impact on food quality. *Food Chemistry*, 57(1), 1996: 51-55.
- FRANKEL, E. N.: Lipid Oxidation. The Oily Press, P.J.Barnes & Ass., Bridgewater, UK, 2005.
- LISIEWSKA, Z. – KMIECIK, W. – KORUS, A.: Content of vitamin C, carotenoids, chlorophylls and polyphenols in green parts of dill (*Anethum graveolens* L.) depending on plant height. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 2006: 134-140.
- LU, Y. – FOO, L. Y.: Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*, 75, 2001: 197-202.
- MIEAN, K.H. – MOHAMED, S: Flavonoid (Myricetin, Quercetin, Kaemferol, Luteolin and Apigenin) content of edible tropical plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2001: 3106-3112.
- MISAN, A.Č. – MIMICA-DUKIC, N.M. – MANDIC, A.I. – SAKAC, M.B. – MILOVANOVIC, I.L. – SEDEJ, I.J.: Development of a rapid resolution HPLC method for the separation and determination of 17 phenolic compounds in crude plant extracts. *Central European Journal of Chemistry*, 9(1), 2011: 133-142.
- POURMORAD, F. – HOSSEINIMEHR, S.J. – SHAHABIMAJD, N.: Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 11, 2006: 1142-1145.
- SAMOJLIK, I. – LAKIC, N. – MIMICA-DUKIC, N. – DAKOVIC-SVAJCER, K. – BOZIN B.: Antioxidant and Hepatoprotective Potential of Essential Oils of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) and Caraway (*Carum carvi* L.) (*Apiaceae*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 2010: 8848-8853.
- SEDLÁKOVÁ, J. – KOCOURKOVÁ, B. – LOJKOVÁ, L. – KUBÁŇ, V.: Determination of essential oil content in caraway (*Carum carvi* L.) species by means of supercritical fluid extraction. *Plant, Soil and Environment*, 49(6), 2003:277-282.
- SEIDLER-LOZYKOWSKA, K. – BARANSKA, M. – BARANSKI, R. – KROL, D.: Raman analysis of caraway (*Carum carvi* L.) single fruits. Evaluation of essential oil content and its composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58, 2010: 5271-5275.
- SINGH, G. – MAURYA, S. – LAMPASONA, M.P. de – CATALAN, C.: Chemical constituents, antimicrobial investigations, and antioxidative potentials of *Anethum graveolens* L. Essential oil and acetone extract: Part 52. *Journal of Food Science*, 70(4), 2005: 208-215.
- STRATIL, P. – KUBÁŇ, V. – FOJTOVA J.: Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods. *Czech Journal of Food Sciences*, 26, 2008: 242-253.
- SOURI, E. – AMIN, G. – FARSAM, H. – ANDAJI, S.: The antioxidant activity of some commonly used vegetables in Iranian diet. *Fitoterapia*, 75, 2004: 585-588.
- WANGENSTEEN, H. – SAMUELSEN, A.B. – MALTERUD, K.E.: Antioxidant activity in extracts from coriander. *Food Chemistry*, 88, 2004: 293-297.
- WEI, A. – SHIBAMOTO, T.: Antioxidant and volatile constituents of various essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 2007:1737-1742.
- YAO, Y. – SANG, W. – ZHOU, M. – REN, G.: Phenolic composition and antioxidant activities of 11 celery cultivars. *Journal of Food Science*, 75(1), 2010: C9-C13.

Poděkování:

Práce vznikla za finanční podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR, MSM 6046137305 a MSM 6046070901 za účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum MŠMT (Rozhodnutí č. 21/2011 a 21/2012).

P 20**STANOVENÍ TOKOFEROLŮ POMOCÍ HPLC S AMPEROMETRICKOU DETEKCÍ NA KOLONÁCH S PENTAFLUORFENYLOVOU STACIONÁRNÍ FÁZÍ**

Fišnar J., Réblová Z.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Úvod

Pro stanovení tokoferolů se v současné době využívá téměř výhradně HPLC [1, 2], a to jak se separací na normálních, tak na reverzních stacionárních fázích. Pro detekci lze pak použít, kromě hmotnostní detekce [3], především detektory spektrofotometrické, fluorescenční a elektrochemické (amperometrické nebo coulometrické) [4]. Elektrochemické detektory jsou přitom z klasických detektorů pro tento typ analytů těmi nejcitlivějšími a nejselektivnějšími detekčními systémy [5]. Nevýhodou je však to, že tyto detektory lze (s ohledem na používané mobilní fáze) použít pro detekci tokoferolů pouze při jejich separaci na reverzních stacionárních fázích, kde nedochází k vzájemné separaci β - a γ - tokoferolu [1]. Tuto nevýhodu odstraňuje jeden z novějších typů chemicky modifikovaných stacionárních fází, a to stacionární fáze s vázanými pentafluorfenylovými skupinami [6], i když možná jsou i některá další řešení [7].

V souvislosti s výše uvedenými fakty bylo proto cílem prezentovaného projektu otestovat použitelnost HPLC metody využívající kombinaci separace na pentafluorfenylové stacionární fázi s amperometrickou detekcí pro stanovení jednotlivých tokoferolů. V první etapě byla přitom tato metoda optimalizována a validována pro stanovení tokoferolů (zejména α -tokoferolu) v rostlinných olejích (i když výhledově je tato metoda uvažována především pro analýzu matric s výrazně nižšími obsahy tokoferolů).

Experimentální část**Příprava vzorků:**

Vzorky rostlinných olejů (přibližně 0,5 g) byly extrahovány směsí methanol – aceton v objemovém poměru 7:3, a to v odměrných baňkách o objemu 50 ml. Poté byly vzorky odstředěny při 1520 g (po dobu 2 minut).

Stanovení tokoferolů:

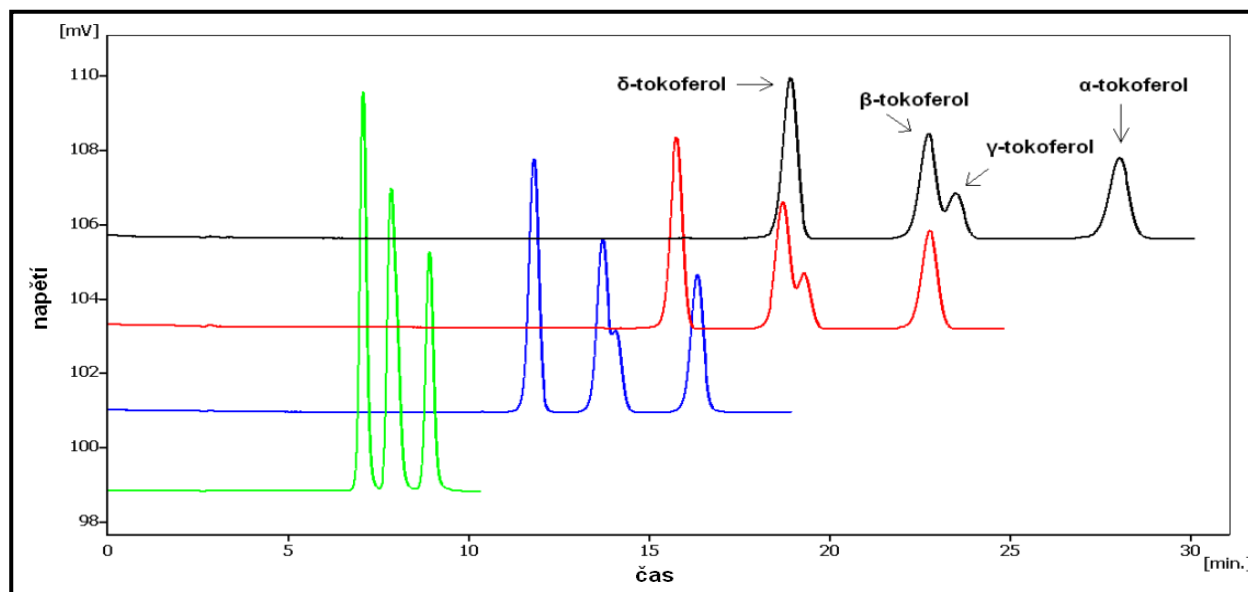
Jednotlivé tokoferoly byly v extraktech rostlinných olejů stanoveny HPLC s amperometrickou detekcí za následujících podmínek:

- *mobilní fáze:* směs methanolu (pro HPLC, Merck) a demineralizované vody v objemovém poměru 84:16, obohacená LiClO_4 (0,02 mol/l; p.a., Sigma Aldrich) a NaCl (0,005 mol/l; p.a., Lachema);
- *průtok m. fáze:* 1 ml/min (čerpadlo LCP 4020.31 v nekovovém provedení; Ecom Praha);
- *nástřik:* 20 μl (nástřikový ventil Rheodyne 7725);
- *kolona:* pentafluorfenylová stacionární fáze, rozměry 250 x 4,6 mm a zrnitost 5 μm (Waters);
- *teplota kolony:* 35 °C (termostat chromatografických kolon LCO 101; Ecom Praha);
- *detekce:* amperometrická; detektor HP 1049A (Hewlett Packard) v tříelektrodovém zapojení, s uhlíkovou měrnou a argentochloridovou referentní elektrodou; detekční potenciál 0,5 V; proudový rozsah 0,5 μA ; po každé analýze bylo provedeno elektrochemické čištění povrchu pracovní elektrody, při kterém byl na elektrody střídavě vkládán potenciál +1,5 V (0,5 s), -0,5 V (0,5 s) a detekční potenciál (0,3 s), celý cyklus byl opakován 10krát;
- *kalibrace:* roztoky α -tokoferolu (pro biochemii, Merck) v methanolu (p.a., Penta) o koncentraci 1,0; 1,5 a 2,0 mg/100 ml methanolu;

- *zpracování signálu*: chromatografická datastanice Clarity (DataApex)

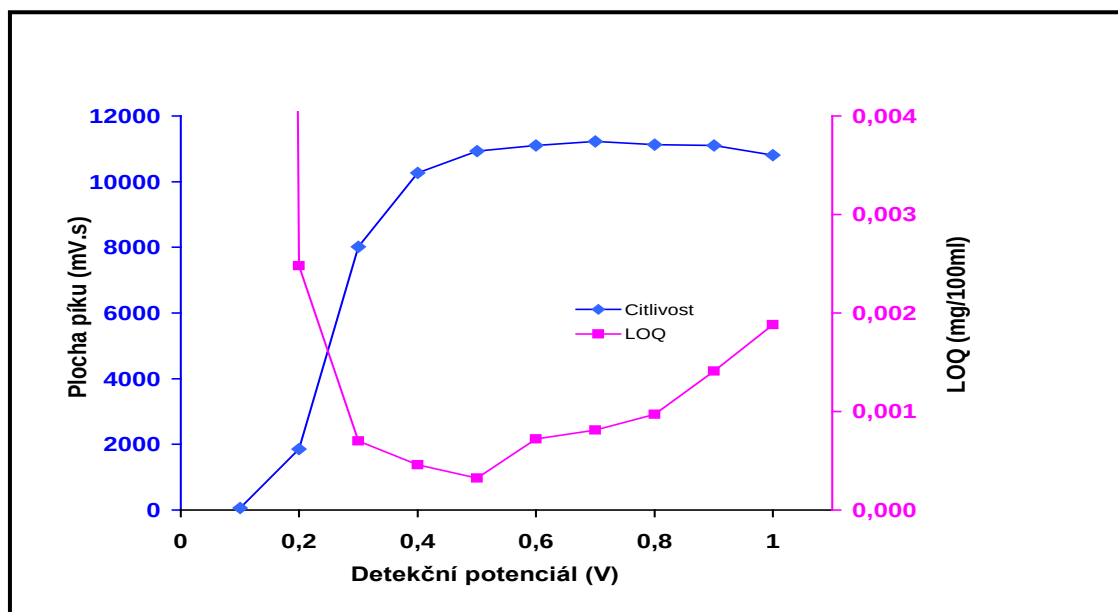
Výsledky a diskuze

Optimalizace chromatografických podmínek se soustředila především na volbu vhodné mobilní fáze a výběr detekčního potenciálu. Z dosud publikovaných prací testujících použitelnost pentafluorfenylových stacionárních fází pro separaci resp. stanovení tokoferolů [7] plyne, že pro tento typ analytů jsou použitelné jako mobilní fáze směsi methanol – voda nebo acetonitril – voda. Avšak pro námi používanou komerčně připravenou kolonu se jako zcela nevhodné ukázaly mobilní fáze obsahující acetonitril. Při použití těchto mobilních fází nedocházelo k vzájemné separaci β - a γ -tokoferolu. Snižující se podíl methanolu v mobilní fázi pak zvyšoval rozlišení mezi β - a γ -tokoferolem (viz obr. 1). Protože však zároveň docházelo k výraznému prodloužení doby analýzy, byla jako kompromisní zvolena mobilní fáze obsahující 84 obj. % methanolu. Při použití této mobilní fáze bylo rozlišení mezi β - a γ -tokoferolem přibližně 0,8.



Obr. 1: Vliv mobilní fáze na eluci tokoferolů a jejich vzájemnou separaci. Jednotlivé mobilní fáze obsahovaly methanol a vodu v procentuálním poměru: zelená linie – 90:10; modrá linie – 86:14; červená linie – 84:16 a černá linie – 83:17.

Jak je patrné z obr. 2, nejvyšší citlivost stanovení α -tokoferolu je dosahována při detekčním potenciálu 0,7 V, zatímco nejnižší mez stanovitelnosti při detekčním potenciálu 0,5 V, kdy je citlivost jen o málo menší než maximální možná. Mez stanovitelnosti je přitom při detekčním potenciálu 0,5 V 0,06 ng, což při zvoleném nástřiku 20 μ l odpovídá koncentraci nastříkaného roztoku 3×10^{-6} mg α -tokoferolu/ml. Pro zvolenou přípravu vzorků rostlinných olejů (viz dále) je pak mez stanovitelnosti α -tokoferolu 0,3 mg/kg, což je vzhledem k typickému obsahu tokoferolů v rostlinných olejích hodnota naprosto dostačující [8]. Je si však nutné uvědomit, že zde uváděné hodnoty a závislosti platí pouze pro testovaný proudový rozsah 0,5 μ A, což je podle doporučení výrobce vhodný proudový rozsah pro rutinní analytické úkoly [9]. Při jiném proudovém rozsahu lze, podle našich zkušeností, dosáhnout i výrazně odlišných hodnot.



Obr. 2: Vliv detekčního potenciálu na citlivost stanovení α -tokoferolu a jeho mez stanovitelnosti (LOQ)

V rámci optimalizace přípravy vzorků rostlinných olejů pak bylo cílem nalézt relativně jednoduchý a rychlý postup umožňující efektivní analýzu větších sérií vzorků. Jako potenciálně vhodný způsob bylo uvažováno rozpouštění v acetonu, které se nám osvědčilo při stanovení tokoferolů pomocí HPLC se separací na reverzních stacionárních fázích [10]. Avšak ve zde optimalizované metodě se ukázal tento jednoduchý postup jako nemožný. Větší množství acetonu v nastříkovaném roztoku totiž deformovalo eluční pásy tokoferolů, a zhoršovalo jejich vzájemnou separaci. Proto byla testována jednoduchá extrakce rostlinných olejů směsmi methanolu a acetonu v různém objemovém poměru. Účinnost extrakce se zvyšovala se vzrůstajícím podílem acetonu v extrakčním rozpouštědle. Pro řepkový olej byl přitom dostačující obsah acetonu v extrakční směsi 20 obj. %, zatímco pro olivový olej s mírně vyšším stupněm nasycenosti [8] to byl obsah acetonu 30 obj. % (testováno jako výtěžnost statisticky neodlišná od 100 %, a to pro přídavek α -tokoferolu zvyšující původní obsah tohoto tokoferolu na přibližně dvojnásobek; $\alpha = 0,05$).

Za zvolených podmínek byla opakovatelnost stanovení α -tokoferolu v olivovém oleji (s obsahem tohoto tokoferolu 113,7 mg/kg) 3,3 % (určeno jako relativní směrodatná odchylka ze třech paralelních stanovení). To je pro tuto koncentrační hladinu naprosto dostačující hodnota [11].

Závěr

Na základě zde prezentovaných výsledků je zřejmé, že testovaná metoda má potenciál stát se selektivní a citlivou metodou pro stanovení jednotlivých tokoferolů v tucích a olejích (a pravděpodobně i dalších matricích). Avšak za zvolených podmínek docházelo postupně ke snižování rozlišení mezi β - a γ -tokoferolem. To může být způsobeno postupnou náhradou F^- iontů z pentafluorofenylových skupin Cl^- ionty, přítomnými v mobilní fázi pro správnou funkci amperometrického detektoru. Tento problém lze řešit použitím dalších kolon, které umožňují separaci β - a γ -tokoferolu při použití HPLC na reverzní stacionární fázi (např. kolona s navázanou oktadecyl polyvinyllovou alkoholovou skupinou [7]). Za předpokladu, že bychom i nadále používali pentafluorofenylovou stacionární fázi, muselo by dojít k výměně referentní argentochloridové elektrody v amperometrickém detektoru. Pak v mobilní fázi nemusí být přítomny Cl^- ionty a nedocházelo by k jejich pravděpodobné výměně za F^- ionty.

Poděkování

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.21/2012)

Literatura

- [1] Abidi L.S.: Chromatographic analysis of tocol-derived lipid antioxidants, *Journal of Chromatography A*, 881 (2000) 197–216.
- [2] Kamal-Eldin A., Görgen G., Jan Pettersson J., Lampi M., A.: Normal-phase high-performance liquid chromatography of tocopherols and tocotrienols. Comparison of different chromatographic columns, *Journal of Chromatography A*, 881 (2000) 217–227.
- [3] Eitenmiller R., Lee j.: *Vitamin E: Food chemistry, composition and analysis*, Chapter 7 Analysis of tocopherols and tocotrienols in foods, Marcel Dekker Inc. (2004) 393 – 394.
- [4] Eitenmiller R., Lee j.: *Vitamin E: Food chemistry, composition and analysis*, Chapter 7 Analysis of tocopherols and tocotrienols in foods, Marcel Dekker Inc. (2004) 371 – 374.
- [5] Lang. J.K., Packer L.: [Quantitative determination of vitamin E and oxidized and reduced coenzyme Q by high-performance liquid chromatography with in-line ultraviolet and electrochemical detection](#), *Journal of Chromatography A*, 685 (1987) 109-117.
- [6] Richheimer L.S., Kent S.M., Bernard W.M.: Reverse-phase high-performance liquid chromatographic method using a pentafluorophenyl bonded phase for analysis of tocopherols, *Journal of Chromatography A*, 667 (1994) 75-80.
- [7] Abidi L.S., Mounts L.T.: Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separations of tocopherols, *Journal of Chromatography A*, 782 (1997) 25-32.
- [8] Velíšek J., Hajšlová J.: *Chemie potravin 1*, 3. vydání, OSSIS, Tábor, (2009).
- [9] *Electrochemical detection in high performance liquid chromatography. A practical primer*, Hewlett Packard, 1989.
- [10] Trojáková L.: *Studium vybraných přírodních antioxidantů (disertační práce)*, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, (2001).
- [11] Hajšlová J.: Studijní materiály pro analýzu potravin, http://web.vscht.cz/hajsloj/PDF_AP/AP_1.pdf, staženo: 30.7.2012.

P 21**CHIPSY AKO ICH NEPOZNÁME**Živčáková M.¹, Korbářová A.¹, Ševčík R.², Řehořková K.²¹⁾ Ústav fyziky a měřicí techniky, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6²⁾ Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6**1) Úvod**

Odroda zemiakov s červenou a modrou dužinou sa pestuje zatiaľ ako len delikatesa pre spestrenie trhu. V poslednej dobe je im zo zdravotných dôvodov venovaná väčšia pozornosť. Dôvodom takéhoto záujmu je najmä ich antioxidačná kapacita, ktorá je v porovnaní so zemiakmi s bielou či žltou dužinou 2-3krát vyššia. Predpokladá sa preto, že práve zemiaky by mohli zvýšiť príjem antioxidantov v ľudskej strave.

V tejto práci sme sa sústredili predovšetkým na meranie farebnosti zemiakových lupienkov vyrobených z vybraných odrôd zemiakov. Zastúpené boli tradičné žlté fenotypy - odrody Agria, Russet Burbank, z červených boli zastúpené odrody Highland Burgundy Red a Rote Emma a z fialových to boli Blaue Elisa, Vitelotte, Blaue St. Galler a Valfi.



Obr. 1a



Obr. 1b



Obr. 1c

Obr. 1: Farebne chipsy (1a – Agria, 1b – Highland Burgundy Red, 1c – Blaue St. Galler)

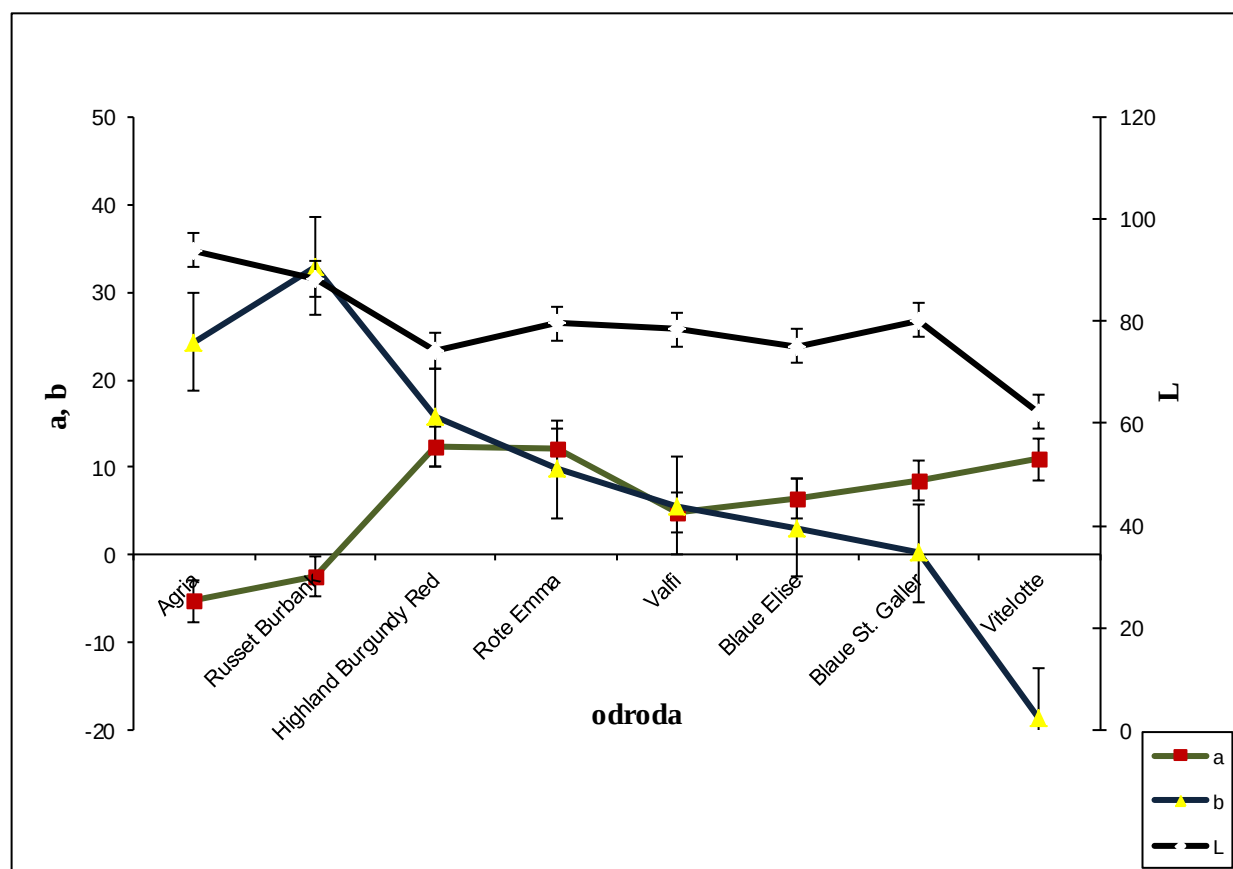
2) Postup merania

Naša meracia základňa pozostávala z digitálnej kamery SONY DFW-SX 910 pre získanie farebných snímok v digitálnom formáte, z LED diódy, z počítača so software NIS-Elements, ktorý umožňuje ukladať obrázky a pomocou software konvertuje farbu na farbu potravinárskeho obrazu L^*a^*b . A napokon bol použitý celofán, ktorý zabránil nežiadúcemu odrazu svetla pri snímaní. Ako podklad pod vzorky nám slúžili biely a čierny semiš. Na čiernom semiši sa vyhodnotenia robili lepšie, pretože nám tam nevznikali nežiadúce tieňe chipsov ako na bielom semiši.

Počiatkom analýzy bolo vyfotenie chipsov. Z každej odrody sme vyfotili päť chipsov. Potom nasledovala úprava snímku chipsov, ktorá spočívala v prahovaní, kedy farebný obrázok sa prevádza do binárneho obrázku. Ďalšou veľmi dôležitou časťou je vyčistenie a vyplnenie dier, kedy nám vznikne jeden celistvý objekt, a tým odstránime rušivé vplyvy snímania. Nasledujúci použitou funkciou obrazovej analýzy je merací rámček, nám umožní vybrať len časť snímku, ktorý chceme analyzovať, a zvyšok (okraje snímok) zanedbať. Po nájdení správneho prahovania, vyčistenia a vyplnenia dier a meracieho rámčeka sme vytvorili makro, tj. automatizovaný sled funkcií, s ktorým sme analyzovali všetky snímky chipsov, kedy sme získali hodnoty pre RGB model tak aj pre L^*a^*b .

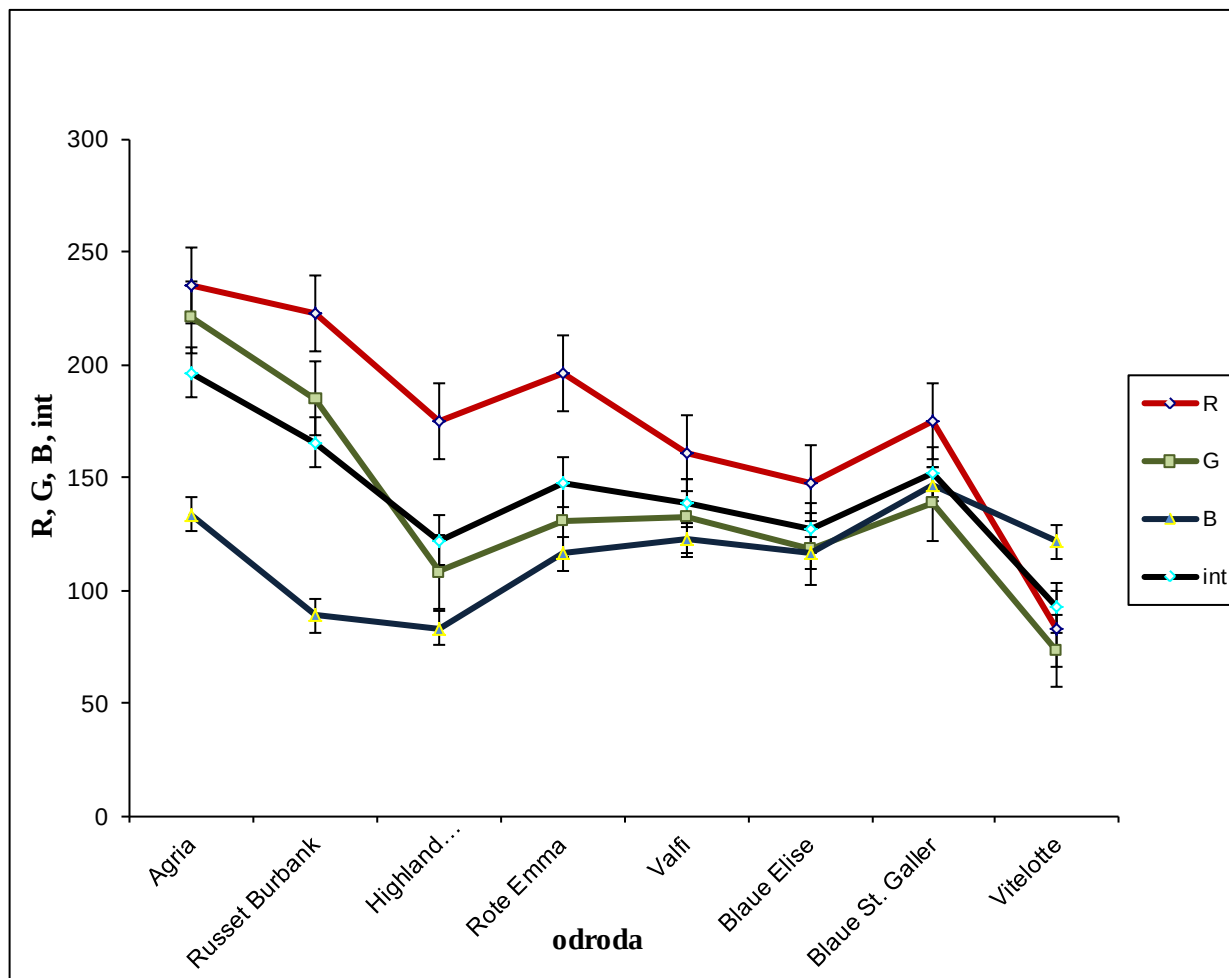
Výsledky boli spracované pre klasický farebný model RGB, tak aj pre model L^*a^*b preferovaný medzi odborníkmi z oblasti potravinárstva.

Graf č. 3: Vyjadrenie farebnosti chipsov pre model L^*a^*b



V prípade modelu $L^*a^*b^*$ (graf č. 1) nás u chipsov zaujíma predovšetkým parameter b , ktorý vyjadruje prechod od žltej farby k modrej. Pre žltú farbu má tento parameter kladnú hodnotu, čo môžeme sledovať u odrôd Agria a Russet Burbank. Od Russet Burbanku môžeme sledovať pokles, najmä u odrôd Highland Burgundy Red, Rote Emma, Valfi a Blaue Elise. Až k prechodu k záporným hodnotám, čo vyjadruje väčšie zastúpenie modrej farby (u modrých odrôd Blaue St. Galler a Vitelotte).

Graf č. 4: Vyjadrenie farebnosti chipsov modelom RGB



Model RGB (graf č. 2) sa nám k popisu farebnosti až tak neosvedčil. Nevieme z neho jednoznačne určiť konkrétnu závislosť farebnosti u žltých, červených či fialových odrôd.

3) Stanovenie antioxidačnej kapacity

Antioxidačná kapacita je parameter, ktorý kvantifikuje antioxidačné vlastnosti potravín. V našom prípade bola stanovená metódou ABTS.

Metóda ABTS, tiež označovaná ako TEAC, tzv. Trolox equivalent antioxidant capacity, je jedna z najpoužívanějších metód stanovenia celkovej antioxidačnej kapacity. Hlavným cieľom je sledovanie inaktivácie radikálového kationu $ABTS^{\cdot+}$, vznikajúceho oxidáciou 2,2'-azobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonátom), kde aktivačným činidlom je peroxid vodíka v prítomnosti peroxidázy (metmyoglobínu). $ABTS^{\cdot+}$ sa meria pri vlnovej dĺžke 600 nm. Pre meranie bol použitý komerčný set Randox.

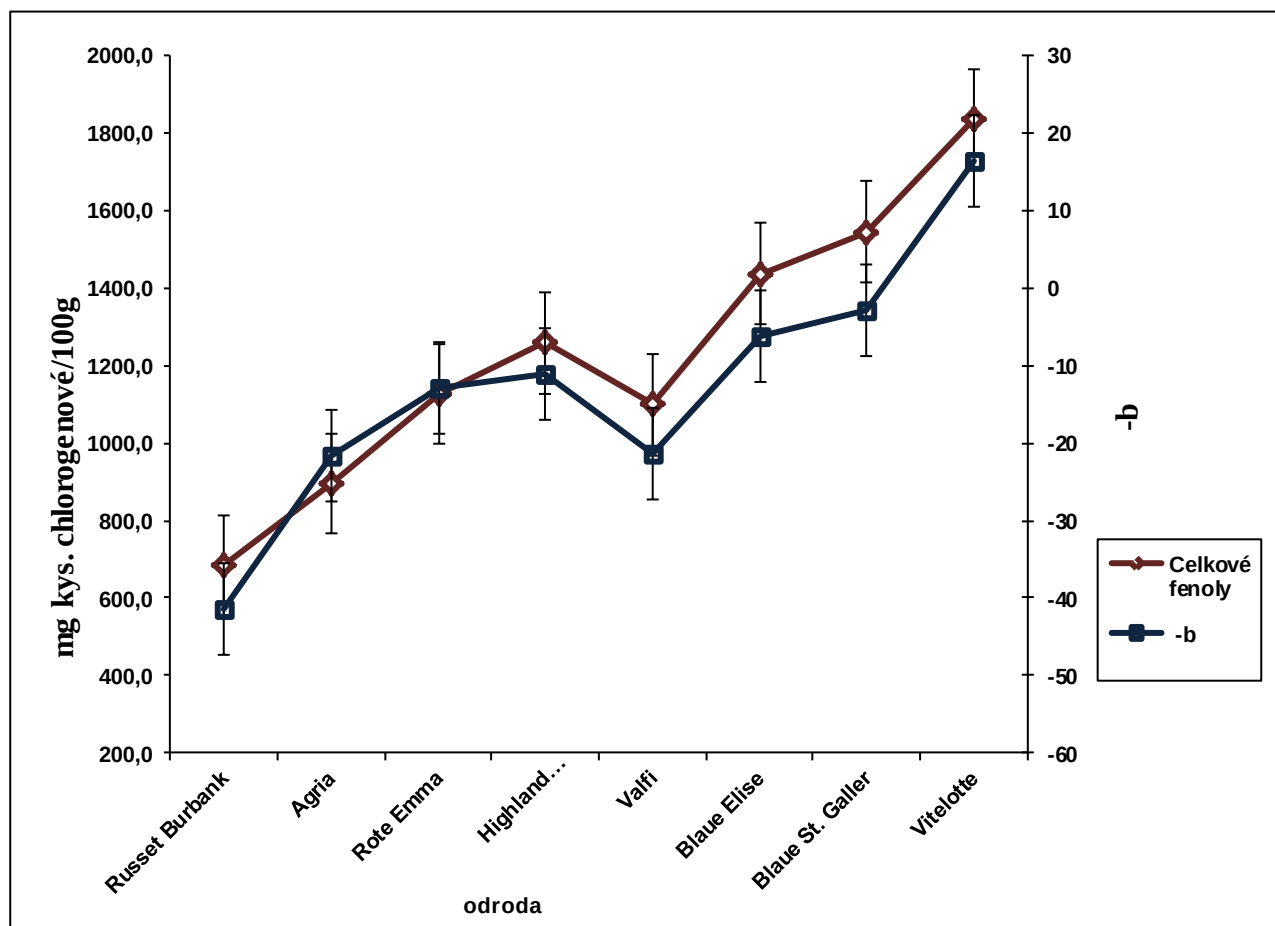
4) Stanovenie celkových fenolov

Stanovenie celkových fenolov bolo uskutočnené spektrofotometricky pomocou Folin-Ciocalteuova činidla. Kyselina chlorogenová bola použitá ako štandard. Absorbancia bola meraná pri 750nm.

5) Záver

Z použitých metód sa nám osvedčil predovšetkým model L^*a^*b , ktorý popisuje farbu na základe ľudského videnia. Zatiaľ, čo model RGB nepopisuje ľudské vnímanie, ani jednotlivé zložky veľmi nezodpovedajú charakteru farebnosti chipsov.

Graf č. 5: Porovnanie farebnosti s antioxidačnou kapacitou chipsov



V závere sme farebnosť porovnali s antioxidačnou kapacitou chipsov, resp. s obsahom fenolických látok, a bolo zistené, že tieto parametre spolu korelujú (graf č. 3). Hodnota korelačného parametru nám vyšla -0,92872.

Dospeli sme k záveru, že obrazová analýza je rýchlejšia, lacnejšia a môžeme s ňou s určitou presnosťou odvodiť antioxidačnú kapacitu.

Do budúcnosti by sme chceli vytvoriť v programe Labview, ktorý by umožnil proces analýzy a vyhodnotenia daných parametrov viac zautomatizovať. Chceli by sme porovnať naše výsledky s iným spôsobom merania farby pre modely RGB a L^*a^*b , napr. Minolta.

P 22**UKAZATELE SENZORICKÉ KVALITY SUŠENÉHO MLÉKA**

Šnebergrová J., Čížková H., Grégrová A., Duchová I., Voldřich M.

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

ÚVOD

Senzorická kvalita sušeného mléka závisí nejen na kvalitě výchozí suroviny, ale je rovněž ovlivněna změnami a vznikem nežádoucích defektů během výrobního procesu a skladování (významná je především aktivita voda, vlhkost, způsob balení, přístup světla, teplota). K degradaci přirozeného aroma dochází zejména jako následek oxidace lipidů, teplem indukovaných reakcí (Maillardova reakce) a vlivem extracelulárních mikrobiálních enzymů. Určitá míra těchto změn je přirozená a dodává sušenému mléku charakteristické aroma, zvýšená intenzita naopak může vést ke vzniku nežádoucích senzorických defektů.

Vzhledem k vysokému obsahu tuku v plnotučném sušeném mléce (cca 26-28 % tuku) bývá častým původcem vad aroma především chemické sloučeniny vznikající při oxidaci lipidů. Peroxidové číslo vyjadřuje obsah primárních oxidačních produktů, hydroperoxidů, které nejsou senzoricky aktivní. Hydroperoxidy jsou ale značně nestabilní a řadou mechanismů mohou degradovat na nízkomolekulární sloučeniny (nejčastěji aldehydy a ketony), které již při nízkých koncentracích mohou způsobovat nežádoucí přípachy. Sekundární produkty oxidace lze např. stanovit pomocí thiobarbiturového čísla, které vyjadřuje koncentraci malondialdehydu ve vzorku. **Cílem práce bylo vybrat a stanovit vhodné kvalitativní parametry v souvislosti s nežádoucími přípachy souboru vzorků sušeného mléka**

MATERIÁL

V práci bylo analyzováno 20 vzorků sušeného mléka stejného složení (obsah tuku 28 %), vyrobených v jednom výrobním závodě v období leden až listopad 2011, skladovaných za doporučených skladovacích podmínek (chlad, temno). 1 vzorek byl bez přípachu (označen jako standard), 8 vzorků bylo s mírným přípachem, ale vyhovující senzorické kvality a 11 vzorků se středně intenzivním přípachem.

METODY

Peroxidové číslo: extrakce lipidů za studena směsí chloroform:methanol (2:1). Po filtraci a odpaření rozpouštědla alikvotní podíl rozpuštěn ve směsi chloroform:kyselina octová (2:3), poté reakce s jodidem draselným a titrace uvolněného jodu odměrným roztokem thiosíranu sodného. Výsledky vyjádřeny jako mekv. aktivního O_2/kg ; **Thiobarbiturové číslo:** malondialdehyd izolován destilací (destilační jednotka K-355, Büchi), reakce s kyselinou 2-thiobarbiturovou za vzniku růžového zbarvení, stanovení intenzity zbarvení spektrofotometricky ($\lambda = 538 \text{ nm}$). Výsledky vyjádřeny jako mg malondialdehydu/kg; **Volný povrchový tuk:** extrakčně petroletherem podle uzanční metody GEA Niro, aplikační list: A 10 a - Surface Free Fat of Powder; **Profil a obsah těkavých látek:** metodou HS-SPME/GC/MS, vnitřní standard butylacetát; **Senzorické hodnocení:** stanovení míry odlišnosti od standardu (trojúhelníková zkouška), popisná senzorika (rozdělení a charakteristika přípachu)

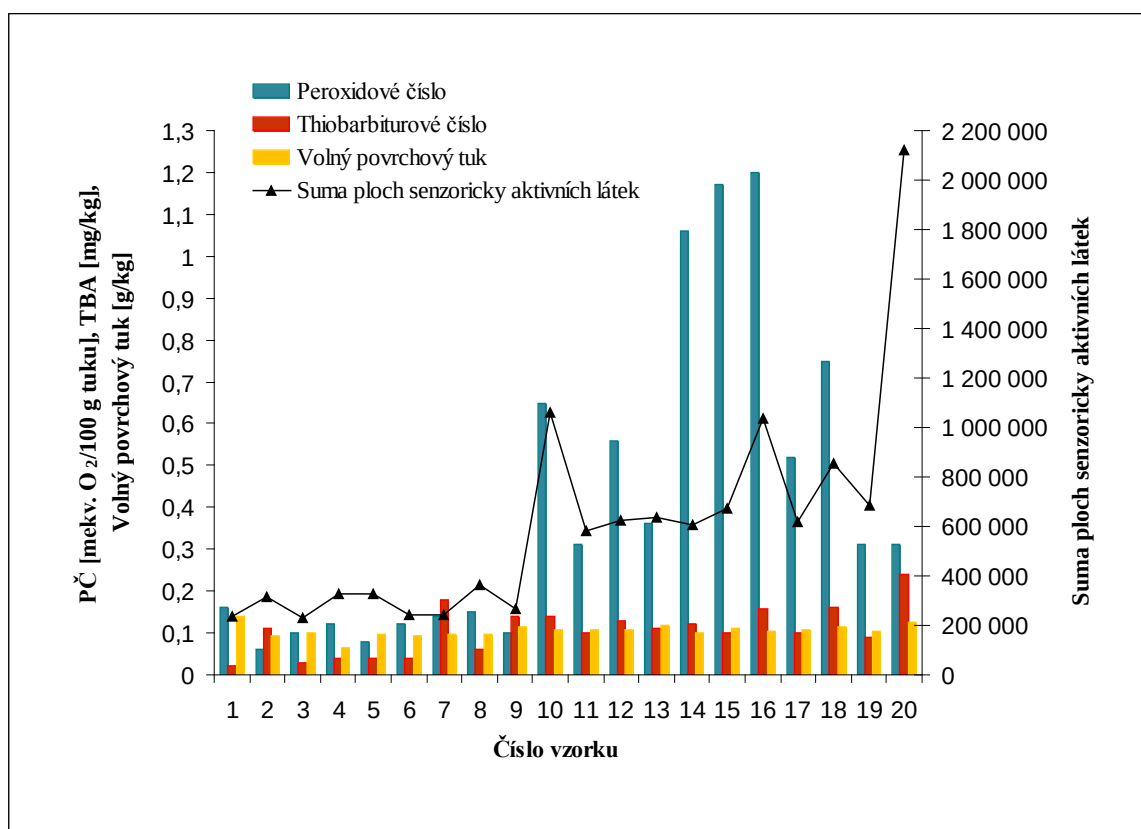
VÝSLEDKY A DISKUSE

Ve studii byly ve vzorcích sušeného mléka změřeny kvalitativní parametry, které byly sledovány v souvislosti s nežádoucími přípachy – peroxidové číslo, thiobarbiturové číslo, volný povrchový tuk, senzoricky aktivní látky (**viz Obr. 1**). U vzorků se středně intenzivním přípachem (č. 10-20) lze pozorovat významně vyšší peroxidové číslo a sumu senzoricky aktivních látek v porovnání se standardním vzorkem (č. 1) a vzorky vyhovující senzorické kvality (č. 2-9). Hodnota peroxidového čísla mléčného tuku v sušeném mléce se podle odborné literatury pohybuje v rozmezí 0,5-25 mekv. O_2/kg tuku, hodnoty nad 5 se považují za nevyhovující. Výrazné zvýšení lze předpokládat při vyšších skladovacích teplotách, skladování na světle nebo v nevhodném obale

(za přítomnosti přechodných kovů) nebo při obohacení sušeného mléka tukem s vyšším obsahem polynenasycených mastných kyselin. U standardního vzorku byla stanovena hodnota 0,5 mekv. O_2 /kg tuku, u vzorků č. 2-9 se hodnota peroxidového čísla pohybovala mezi 0,2 a 1,9 mekv. O_2 /kg tuku, u vzorků s přípachem 4,5-14,3 mekv. O_2 /kg tuku. Z celkového počtu 20 analyzovaných vzorků bylo u 10 vzorků stanoveno peroxidové číslo nad kritickou hodnotou 5 mekv. O_2 /kg tuku. Thiobarbiturovým číslem byl stanoven obsah malondialdehydu, sekundárního produktu oxidace lipidů. U standardního vzorku byla stanovena koncentrace malondialdehydu 0,02 mg/kg, u vzorků č. 2-9 se hodnota pohybovala mezi 0,03 a 0,18 mg/kg, u vzorků s přípachem 0,09 až 0,24 mg/kg.

Měřením souboru vzorků bylo prokázáno, že obsah sensoricky aktivních látek významně koreluje se stanoveným peroxidovým a thiobarbiturovým číslem (**Tab. 1**). Naopak se neprokázalo, že by obsah volného povrchového tuku (parametr vyjadřující náchylnost ke žluknutí) koreloval se sensorickými defekty a obsahem oxidačních produktů.

Obr. 2 Kvalitativní parametry sušeného mléka. Vz. 1 standardní vzorek, Vz. 2-9 vzorky s mírným přípachem, Vz. 10-20 vzorky se středně intenzivním přípachem

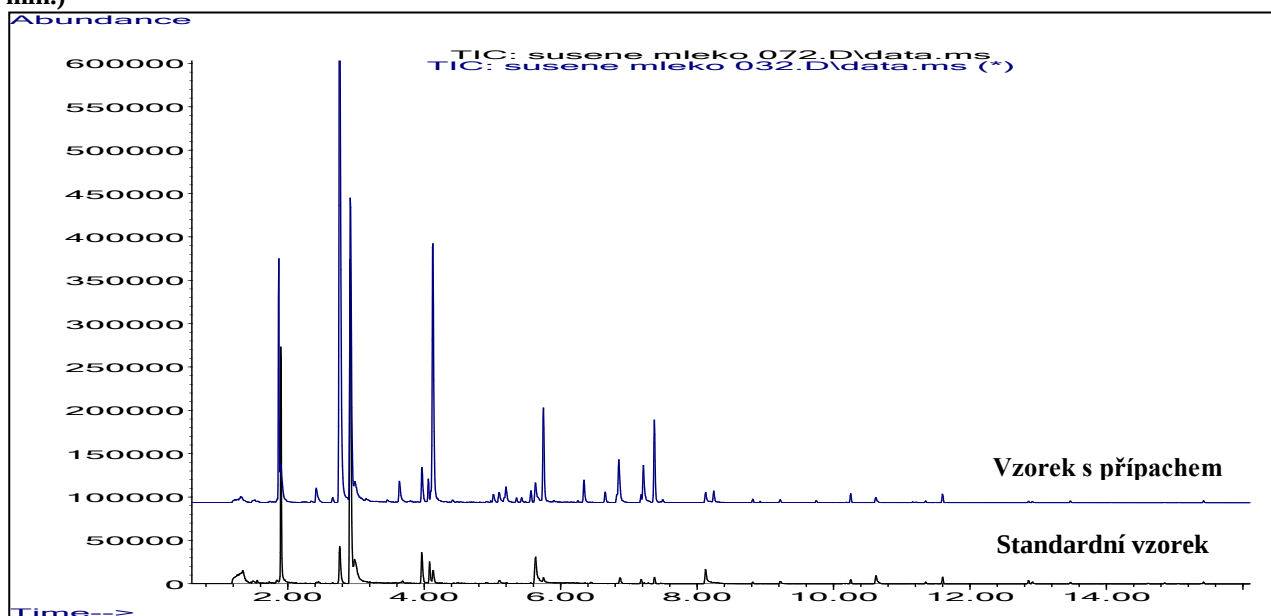


Tab. I Korelační matice kvalitativních parametrů (n=20). Barevně zvýrazněné – korelace významná na hladině $\alpha = 0,05$

	Peroxidové číslo	Thiobarbiturové číslo	Volný povrchový tuk	Senzoricky aktivní látky
Peroxidové číslo	1,00			
Thiobarbiturové číslo	0,48	1,00		
Volný povrchový tuk	0,21	0,27	1,00	
Senzoricky aktivní látky	0,60	0,73	0,36	1,00

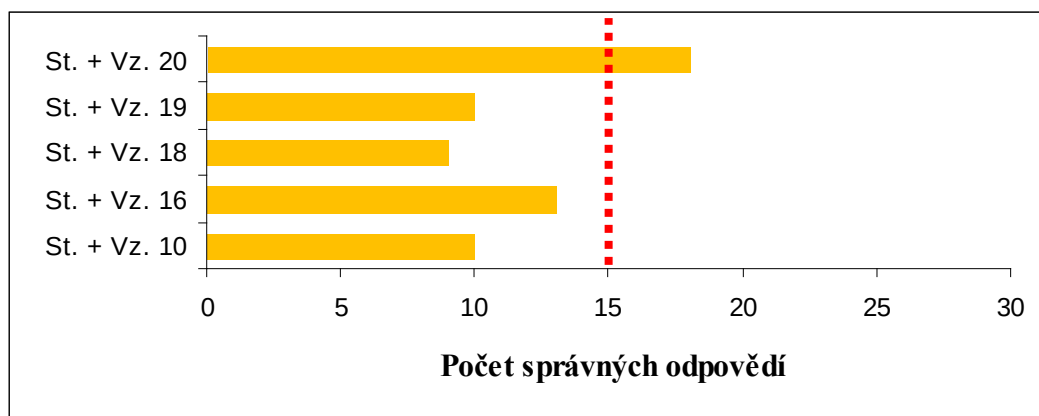
Ve všech vzorcích byly nalezeny pro sušené mléko charakteristické těkavé látky (aldehydy a ketony), které jsou v nízkých hladinách přirozené, ve vyšších pak indikují proběhnuté oxidační změny. Na obrázku 2 je ukázka překrytých chromatogramů, kde je srovnán standardní vzorek bez přípachů se vzorkem, který vykazoval nestandardní vůni. Nejvýznamnější rozdíly v koncentracích látek jsou v obsahu aldehydů (pentanal, hexanal, heptanal, oktanal,) a ketonů (2-heptanon, 2-nonanon, 3,5-oktadien-2-on).

Obr. 3 Překryté chromatogramy profilu těkavých látek. Nejvýznamnější rozdíly v koncentracích látek jsou u pentanalu ($t=1,9$ min.), hexanalu ($t=2,7$ min.), heptanalu (4,1 min.), oktanalu (5,8 min.), 3,5-oktadien-2-onu (7,2 min.)



Rozdíl mezi standardním vzorkem bez přípachu a 5 vzorků se středně intenzivním přípachem byl sensoricky hodnocen pomocí trojúhelníkového testu (posuzováno bylo aroma). Vzorek hodnocený jako standardní nevykazoval smyslové závady, naopak měl charakteristické znaky pro mléko. Výsledky byly statisticky průkazné pouze u 1 z 5 vzorků (**obr. 3**), procento správných odpovědí ovšem silně koreluje s obsahem sensoricky aktivních látek stanovených metodou SPME/GC/MS. Přípachy mléka u vzorků s nejintenzivnějším přípachem byly charakterizovány jako žluklé, po trávě.

Obr. 4 Stanovení rozdílů aroma vzorků sušeného mléka sensorickým hodnocením – trojúhelníkovou metodou ($P = 95\%$), hranice průkaznosti 10 hodnotitelů je 15 správných odpovědí (vyznačeno čarou)



ZÁVĚR

- Ve všech vzorcích byly nalezeny pro sušené mléko charakteristické těkavé látky, které jsou v nízkých hladinách přirozené, ve vyšších pak indikují proběhnuté oxidační změny.
- Obsah senzoricky aktivních látek významně koreluje se stanoveným peroxidovým a thiobarbiturovým číslem. Měřením souboru vzorků nebylo zjištěno, že by obsah volného povrchového tuku koreloval se senzorickými defekty a obsahem oxidačních produktů.
- Přípachy mléka u vzorků s nejintenzivnějším přípachem byly charakterizovány jako žluklé, po trávě.
- Z výše uvedeného vyplývá, že obsah senzoricky aktivních látek a thibarbiturové číslo jsou dobrým nástrojem pro kontrolu senzorické kvality sušeného mléka a to i v době, kdy případný přípach ještě není pro většinu hodnotitelů smyslově postřehnutelný.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce byla financována z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 21/2012) a z podpory projektu MZe Q191B283.

POUŽITÁ LITERATURA

- S. Albalá-Hurtado et al: *Comparison of two fat extraction methods in powdered infant milks*. Journal of food composition and analysis 12, 333-337 (1999).
- Cadwallader K.R., Singh T.K.: *Flavours and Off-Flavours in Milk and Dairy Products*, str. 631-690. In: *Advanced Dairy Chemistry, Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents*, McSweeney P., Fox P. F. (ed), ISBN 978-0-387-84865-5. Springer, New York (2009).
- Lloyd M. A, Drake M.A., Gerard P.D.: *Flavor Variability and Flavor Stability of U.S.-Produced Whole Milk Powder*. Journal of food science. 74, S334-S343 (2009).

P 23**POROVNÁNÍ RŮSTU VYBRANÝCH MLÉKAŘSKÝCH KULTUR NA KOZÍM A KRAVSKÉM MLÉCE**

Marková M.¹, Borková M.², Peroutková J.², Pechačová M.¹, Zikán V.², Novák P.¹, Nehyba A.², Mátlová V.³

¹⁾ MILCOM a.s., Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6

²⁾ Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6

³⁾ Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Přátelství 815, 104 00 Praha - Uhřetěves

Abstrakt

Cílem práce bylo porovnat vybrané charakteristiky čistých mlékařských kultur na kozím a kravském mléce. Vybrané mlékařské kultury byly kultivovány ve vzorcích kozího a kravského mléka. U hotových výrobků bylo stanoveno pH. Při senzorickém hodnocení byla sledována konzistence a chuť vyrobených nápojů. Na izotachoforetickém analyzátoru bylo provedeno srovnání vlivu kultivačního média na fermentační profil fermentovaného nápoje. U vyrobených fermentovaných nápojů byly stanoveny počty jogurtových bakterií, *Enterococcus faecium*, kvasinek a mezofilních bakterií mléčného kysání.

Úvod

Kozí a kravské mléko jsou si složením podobné. Množství bílkovin je stejné, avšak jejich skladba je rozdílná, což je pravděpodobně důvod, proč zejména kojenci, kteří nesnášejí kravské mléko jako náhražku mateřského mléka, dobře snášejí mléko kozí. Důvodem může být polymorfismus mléčných bílkovin, který je spojen s kvantitativní i kvalitativní variabilitou v syntéze bílkoviny, která má dopad na obsah jednotlivých složek mléka, na koagulační vlastnosti mléka, na velikost a mineralizaci micel, výtěžnost sýra, senzorické a technologické vlastnosti mléka. Mléko od slabých a nulových alel není vyhledáváno z hlediska technologického, ale z hlediska dietického je stravitelnější pro nižší obsah bílkovin (Sztankoová, 2006). Tuk kozího mléka složením odpovídá více mateřskému mléku. Jeho výhodou je také lehká stravitelnost, protože je v mléce rozptýlen ve formě drobných kuliček. Složení kozího mléka je ovlivněno plemenem, výživou, faktory životního prostředí, stádiem laktace a ročním obdobím (Tziboula-Clarke, 2003). Výživová hodnota kozího mléka je v porovnání s kravským vyšší díky aminokyselinám obsahujícím síru, vyšším obsahem vápníku a fosforu, vitamínu A, riboflavínu a mastným kyselinám s krátkým řetězcem.

Naše práce se zabývala porovnáním vybraných charakteristik u vyrobených fermentovaných nápojů z kozího a kravského mléka.

Experimentální část

Čisté mlékařské kultury vybrané ve spolupráci s pracovníky Sbírky čistých mlékařských mikroorganismů Laktoflora® byly zaočkovány za obvyklých kultivačních podmínek (viz Tabulka 1) do bazénových vzorků kravského a kozího mléka. Pozornost byla zaměřena na kultury s tvorbou polysacharidů, které pozitivně ovlivňují konzistenci hotového výrobku. U fermentovaných nápojů bylo provedeno stanovení aktivní kyselosti a senzorické hodnocení (Pokorný a kol. 1999). Na konci doby skladování byla stanovena denzita probiotických mikroorganismů. Počty jogurtových bakterií byly stanoveny dle (ČSN ISO 7889, 2004), *Enterococcus faecium* dle (ČSN 56 0100, 1994) a kvasinek dle (ČSN ISO 6611, 1998). Denzita mezofilních bakterií mléčného kysání byla stanovena (M 17 agar, 30 °C / 72 h). Srovnání vlivu kultivačního média na fermentační profil vybraných organických kyselin bylo provedeno na izotachoforetickém analyzátoru (IONOSEP 2003).

Výsledky a diskuse

U hotových výrobků bylo dosaženo srovnatelného pH u *Enterococcus faecium* (CCDM 922) a u *Lactobacillus acidophilus* (CCDM 81). U ostatních vzorků bylo dosaženo nižšího pH u kozího

mléka (viz Tabulka 1). Čisté mlékařské kultury měly po kultivaci v kravském a kozím mléce na konci doby skladování následující denzitu probiotických mikroorganismů (viz Tabulky 2 - 6). Z výsledků je možné konstatovat, že při testování monokultur *Lactobacillus acidophilus* (CCDM 81) a *Enterococcus faecium* (CCDM 922) i směsných kultur (kefírová, jogurtová) použitá matrice neovlivňovala denzitu probiotických mikroorganismů po ukončení fermentace za dodržení srovnatelných podmínek kultivace. Fermentované nápoje vyrobené z kravského i kozího mléka na konci doby spotřeby splňují Vyhlášku 370/2008 Sb. Při senzorickém hodnocení chuti byla kefírová a jogurtová kultura CCDM 21 shodně (velmi dobře) hodnocena, jak na kravském, tak i na kozím mléce. U ostatních variant byly hůře hodnoceny výrobky z kozího mléka. Celkově byla nejhůře hodnocena varianta *Lactobacillus acidophilus* (CCDM 81) u kravského i kozího mléka.

Výrobky z kozího mléka až na kefírovou kulturu a *Enterococcus faecium* (CCDM 922) dosahují většího množství kyseliny mléčné než výrobky z kravského mléka (viz Graf 1). Obsah kyseliny citronové v kozím mléce je v souladu s poznatky z literatury (Tziboula-Clarke, 2003). Před kultivací bylo větší množství kyseliny citronové obsaženo v kravském mléce (viz Graf 2). Po kultivaci bylo zjištěno vyšší množství kyseliny citronové u kravského mléka u *Enterococcus faecium* (CCDM 922) i u směsných jogurtových kultur CCDM 21 a CCDM 176. Kefírová kultura kyselinu citronovou zcela spotřebovala. U jogurtového nápoje z kozího mléka byla spotřebovaná pouze polovina kyseliny citronové. Kyseliny octové (Graf 3) bylo obsaženo více v kravském mléce. Nejvíce kyseliny octové produkovala kefírová kultura, kefírový nápoj a *Lactobacillus acidophilus* (CCDM 81).

Tabulka 1: Varianty pokusu, podmínky kultivace a pH hotových výrobků

varianta	teplota	doba fermentace	pH - kravské mléko	pH - kozí mléko
Kefírová kultura	23 °C	16 hod	4,36	4,20
CCDM 922 <i>Enterococcus faecium</i>	37 °C	16 hod	4,21	4,18
CCDM 81 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	37 °C	16 hod	3,49	3,54
CCDM 21 jogurtová kultura	43 °C	4,5 hod	4,48	3,87
CCDM 176 jogurtová kultura	43 °C	4,5 hod	4,41	3,88
Kefírový nápoj (1 + 2 + 3)	30 °C	16 hod	4,08	3,92
Jogurtový nápoj (2 + 4 + 5)	30 °C	16 hod	4,08	3,86

Tabulka 2: Porovnání denzity mikroorganismů v kravském a kozím mléce - kefírová kultura

vzorek	Σ mléčných streptokoků JTK / 1g	Σ mléčných laktobacilů JTK / 1g	kvasinky JTK / 1g
kravské mléko	$4,9 \times 10^7$	$7,6 \times 10^6$	$1,2 \times 10^5$
kozí mléko	$1,4 \times 10^8$	$9,3 \times 10^6$	$3,6 \times 10^5$

Tabulka 3: Porovnání denzity mikroorganismů v kravském a kozím mléce - *Enterococcus faecium* (CCDM 922) a *Lactobacillus acidophilus* (CCDM 81)

vzorek	<i>Enterococcus faecium</i> JTK / 1g	<i>Lactobacillus acidophilus</i> JTK / 1g
kravské mléko	$8,4 \times 10^6$	$9,5 \times 10^8$
kozí mléko	$2,4 \times 10^6$	$7,9 \times 10^7$

Tabulka 4: Porovnání denzity mikroorganismů v kravském a kozím mléce jogurtové kultury

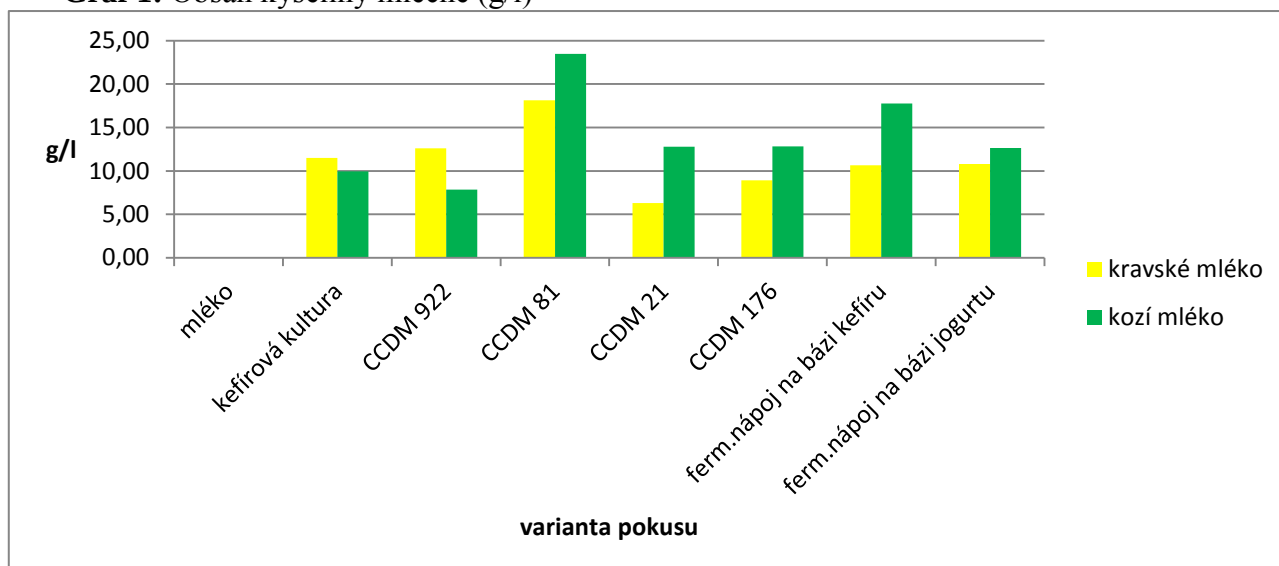
vzorek	<i>Streptococcus thermophilus</i> JTK / 1g	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> JTK / 1g	Σ jogurtových bakterií JTK / 1g
kravské mléko – CCDM 21	$6,5 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$	$9,5 \times 10^7$
kozí mléko – CCDM 21	$4,8 \times 10^7$	$9,0 \times 10^6$	$5,7 \times 10^7$
kravské mléko – CCDM 176	$4,3 \times 10^7$	$4,1 \times 10^7$	$8,4 \times 10^7$
kozí mléko – CCDM 176	$5,2 \times 10^7$	$4,6 \times 10^7$	$9,8 \times 10^7$

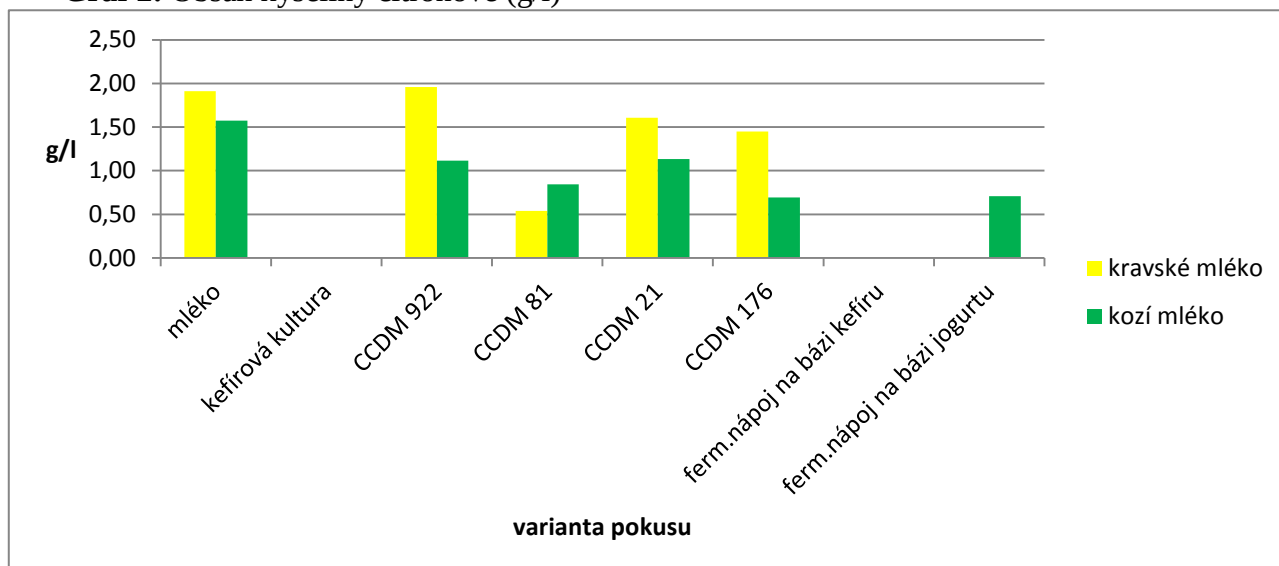
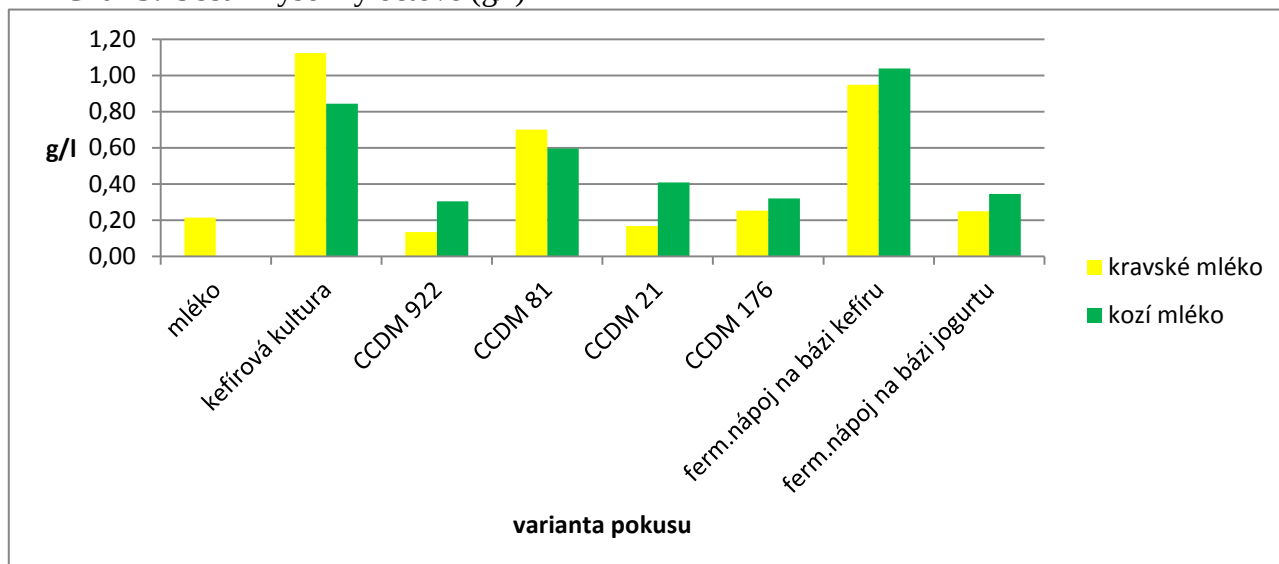
Tabulka 5: Porovnání denzity mikroorganismů v kravském a kozím mléce – keřirový nápoj

číslo vzorku	Σ mléčných streptokoků JTK / 1g	Σ mléčných laktobacilů JTK / 1g	<i>Enterococcus faecium</i> JTK / 1g	kvasinky JTK / 1g
kravské mléko	$6,1 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	$2,1 \times 10^5$	$2,8 \times 10^4$
kozí mléko	$7,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$3,0 \times 10^5$	$2,0 \times 10^4$

Tabulka 6: Porovnání denzity mikroorganismů v kravském a kozím mléce – jogurtový nápoj

číslo vzorku	<i>Streptococcus thermophilus</i> JTK / 1g	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> JTK / 1g	Σ jogurtových bakterií JTK / 1g	<i>Enterococcus faecium</i> JTK / 1g
kravské mléko	$1,1 \times 10^7$	$4,5 \times 10^6$	$1,6 \times 10^7$	$3,1 \times 10^5$
kozí mléko	$2,0 \times 10^7$	$6,6 \times 10^6$	$2,7 \times 10^7$	$5,4 \times 10^5$

Graf 1: Obsah kyseliny mléčné (g/l)

Graf 2: Obsah kyseliny citronové (g/l)**Graf 3:** Obsah kyseliny octové (g/l)

Závěr

Při porovnání čistých mlékařských kultur na kozím a kravském mléce bylo zjištěno, že je dosaženo srovnatelné density mikroorganismů a je splněn požadavek na Vyhlášku 370/2008 Sb. U výrobků z kozího mléka dochází k vyšší produkci kyseliny mléčné a nižšímu pH hotových výrobků. Při sensorickém hodnocení chuti byly hůře hodnoceny výrobky z kozího mléka.

Literatura

ČSN ISO 6611 (560114) Stanovení počtu jednotek kvasinek anebo plísň tvořící kolonie - Technika počítání kolonií vykultivovaných při 25 °C. Český normalizační institut, Praha 1998

ČSN ISO 7889 Jogurt – stanovení počtu charakteristických mikroorganismů – Technika stanovení počtu kolonií při 37°C. Český normalizační institut, Praha, 2004.

Sbírka mlékařských mikroorganismů Laktoflora® - katalog kultur, Praha, MILCOM a.s., 2003

SZTANKOÓVÁ, Z. Kozie mlieko verzus genetický polymorfizmus. *Mliekarstvo*. 2006, č. 1, s. 31-32.

POKORNÝ J., VALENTOVÁ H., PUDIL F.: Senzorická analýza potravin laboratorní cvičení, Praha 1999

TZIBOULA-CLARKE A.: *Goat Milk*. In Encyklopedia of Dairy Science, (Roginski H., Fuquay J. W., Fox P. F., eds.), str. 1272. London: Academic Press, 2003.

Tato práce byla vytvořena za podpory výzkumného záměru MŠMT ČR MSM č. 2672286101 ve spolupráci s VÚŽV.

P 24**SLEDOVÁNÍ ZMĚN VE SLOŽENÍ KOZÍHO MLÉKA V ZÁVISLOSTI NA GENETICKÉ VARIANTĚ α_{S1} -KASEINU**Borková M.¹, Marková M.¹, Snášelová J.², Mátlová V.³, Sztankoová Z.³¹⁾ Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6²⁾ MILCOM a.s., Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6³⁾ Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Přátelství 815, 104 00 Praha Uhřetěves**Abstrakt**

Cílem práce bylo vyhodnotit změny ve složení kozího mléka různých genetických variant α_{S1} -kaseinu. Bylo analyzováno 86 vzorků kozího mléka. Každý vzorek byl získán odběrem od individuálního zvířete a byla u něho stanovena genetická varianta α_{S1} -kaseinu pomocí PCR. U všech vzorků bylo sledováno jejich základní složení. Obsah tuku byl stanoven butyrometricky, obsah sušiny vážkově a zastoupení dusíkatých látek bylo provedeno stanovením podle Kjeldahla.

Úvod

Kozí mléko je významným zdrojem hodnotných bílkovin, lehce stravitelného tuku, důležitých minerálních látek a vitamínů. Složení kozího mléka je ovlivněno mnoha faktory jako např. druh plemene, věk, výživa, stádium laktace, genetické vlivy a roční období (Clark 2000). Sledovat složení kozího mléka, s ohledem na vliv jednotlivých faktorů, je důležité nejenom z hlediska nutričního, ale také technologického. To se týká zejména obsahu kaseinu v mléce, který je důležitý zvláště z hlediska syrařství. Tato složka ovlivňuje množství vzniklé syřeniny, s čímž souvisí technologická výtěžnost a kvalita vzniklého produktu.

V posledních letech se velká pozornost věnuje vlivu genetického polymorfismu kaseinu na složení mléka a s tím souvisejícími technologickými vlastnostmi mléka. O polymorfismu hovoříme, pokud se některá bílkovina vyskytuje v organismu anebo v populaci ve více jak dvou variantách. Jsou-li jednotlivé varianty těchto bílkovin geneticky determinované, jedná se o polymorfismus genetický (Sztankoová, 2006). Genetický polymorfismus α_{S1} -kaseinu v kozím mléce je značný a je důležitým předmětem výzkumů, protože ovlivňuje množství α_{S1} -kaseinu přítomného v mléce (Moioli 2007). Do současnosti bylo identifikováno nejméně 17 alel (Marletta, 2007; Moioli 2007, Valenti 2012), které jsou rozloženy v různých variantách kozího α_{S1} -kaseinu (A, B1, B2, B3, B4, C, D, E, F, G, H, I, L, M, N, O1 a O2) a spojovány se čtyřmi hladinami výskytu α_{S1} -kaseinu v kozím mléce a to v rozsahu od 0 (nulové alely O1, O2 a N α_{S1} -kaseinu) do 3,6 g/l (v případě silných alel A, B1, B2, B3, B4, C, H, L a M) na alelu. Alely D, F a G (slabé) jsou spojeny s nízkým obsahem α_{S1} -kaseinu (cca 0,45 g/l) a alely E a I (střední) je spojena se středním obsahem (cca 1,1 g/l) (Valenti 2012).

Naše práce se zabývala stanovením genetických variant α_{S1} -kaseinu v odebraných vzorcích kozího mléka od koz ze dvou mléčných plemen a to koza bílá krátkosrstá a koza hnědá krátkosrstá a sledováním změn ve složení těchto vzorků podle jednotlivých skupin genetických variant α_{S1} -kaseinu. Pro srovnání teoretické a skutečné výtěžnosti mléka bylo sledováno kaseinové číslo a výtěžnost v sušinových jednotkách.

Experimentální část

Bylo odebráno 86 vzorků kozího mléka v průběhu laktace v období červen až říjen. Odebrán byl vždy celý nádoj mléka a to minimálně 42 dní po porodu. U těchto vzorků byla metodou PCR stanovena genetická varianta α_{S1} -kaseinu. Bylo provedeno stanovení základního složení tuku butyrometricky (ČSN ISO 2446) a celkové sušiny gravimetricky (ČSN ISO 6731). Celkový obsah dusíkatých látek (ČSN ISO 570530), nekaseinového dusíku (ČSN ISO 570530) a nebílkovinných dusíkatých látek (Černá a Cvak, 1986) byl stanoven Kjeldahlovou metodou. Ze stanovených hodnot byl dopočítán obsah kaseinu, čistých bílkovin a syrovátkových bílkovin. Byla vypočtena výtěžnost v sušinových jednotkách (SJ) z vyrobené syřeniny a to následujícím způsobem. Přesné množství

mléka bylo vysráženo syřidlem (síla 1 : 15000, 75 % pepsin a 25 % chymosin) a po prokrájení sýřeniny, odkapání syrovátky, byla stanovena hmotnost sýřeniny, obsah jejího tuku a sušiny, z těchto výsledků byla vypočítána výtěžnost. Výtěžnost je vyjádřena v sušinových jednotkách (SJ), které přecházejí do sýra ze zpracovaného 1 kg mléka. Kaseinové číslo, které vyjadřuje procentuální zastoupení kaseinu v hrubé bílkovině, bylo získáno výpočtem ze stanovení kaseinu a hrubé bílkoviny.

Výsledky a diskuse

Ve sledovaném souboru byly zjištěny 3 různé genetické varianty α_{S1} -kaseinu a to varianta FA, FF a F0. Nejvíce byla zastoupena genetická varianta FA α_{S1} -kaseinu, která se vyskytovala u 54 vzorků z 86. Genetická varianta FF α_{S1} -kaseinu byla stanovena u 28 vzorků a nejméně se vyskytovala varianta F0, která byla zjištěna pouze u čtyř vzorků. Při hodnocení základního složení mléka podle varianty α_{S1} -kaseinu (viz Graf 1) bylo zjištěno, že obsah jednotlivých složek byl nejvyšší v případě varianty FA a nejnižší v případě varianty F0. Tyto výsledky jsou v souladu s poznatky z literatury (Valenti 2012) a výskytem silné alely A v genotypu FA α_{S1} -kaseinu, slabých alel v FF variantě a přítomností nulové alely v F0 variantě α_{S1} -kaseinu.

Z technologického hlediska je významný zjištěný rozdíl v obsahu bílkovin (viz Tabulka 1), kdy nejvíce bílkovin bylo stanoveno u varianty FA (3,51 %) a nejméně u varianty F0 (2,84 %). Významné rozdíly byly zjištěny v obsahu kaseinu, jehož obsah byl nejvyšší pro variantu FA (2,58 %) a nejnižší pro variantu F0 (2,04 %), přičemž rozdíl mezi variantou FA a F0 byl 0,54 %. V obsahu syrovátkových bílkovin byly mezi jednotlivými genetickými variantami α_{S1} -kaseinu menší rozdíly. Nejvyšší obsah syrovátkových bílkovin byl zjištěn u genetické varianty FA α_{S1} -kaseinu (0,69 %) a nejnižší u varianty F0 (0,55 %). Obsah nebílkovinných dusíkatých látek se téměř nelišil (viz Graf 2).

Průměrná hodnota obsahu tuku všech vzorků byla 3,06 g/100 ml (viz Tabulka 2). Ze sledovaných variant α_{S1} -kaseinu byl zjištěn nejvyšší obsah tuku 3,12 g/100 ml u varianty FA. Při hodnocení obsahu celkové sušiny byla zjištěna průměrná hodnota 11,23 %. Varianta α_{S1} -kaseinu FA dosahovala v průměru o 0,36 % a 1,09 % celkové sušiny víc než varianta FF a F0 α_{S1} -kaseinu.

Naměřené minimální a maximální hodnoty bílkovin, kaseinu, syrovátkových bílkovin a tuku pro jednotlivé genetické varianty α_{S1} -kaseinu jsou uvedeny v Tabulce 3. Rozptyl výsledků je daný velkým množstvím faktorů mající vliv na složení mléka (viz výše) a přibližně odpovídá rozptylu ve složení kozího mléka, jak je uváděno v literatuře (Tziboula-Clarke, 2003).

Stanovená výtěžnost mléka (formou sušinových jednotek) byla nejvyšší pro genetickou variantu FA (3,31 SJ). V případě varianty FF byla výtěžnost nižší a to 3,02 % a nejnižší byla zjištěna pro variantu F0 a to 2,78 % (viz Tabulka 2). U 12-ti vzorků nebylo možno hodnocení výtěžnosti provést, protože nedošlo k požadovanému sražení mléka (5-krát v případě varianty FF a 7-krát v případě varianty FA). Sledována byla také hodnota kaseinového čísla. Tyto výsledky se téměř nelišily pro genetickou variantu FA a FF (74,3 a 74,2 %). U vzorků s variantou F0 byly významně nižší v porovnání s variantou FF a FA a to 71,6 % (viz Tabulka 2).

Tabulka 1: Výsledky obsahu dusíkatých látek v kozím mléce rozdělené podle genetické varianty α_{S1} -kaseinu.

genetická varianta α_{S1} -kaseinu	počet vzorků	hrubá bílkovina	čistá bílkovina	nebílkovinné dusíkaté látky	kasein	syrovátkové bílkoviny
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
FA	54	3,51	3,27	0,24	2,58	0,69
FF	28	3,11	2,88	0,23	2,29	0,59
F0	4	2,84	2,59	0,25	2,04	0,55
průměr		3,34	3,10	0,23	2,45	0,65

Poznámka: Výsledky v tabulce jsou uvedeny jako průměry jednotlivých stanovení pro danou genetickou variantu α_{S1} -kaseinu.

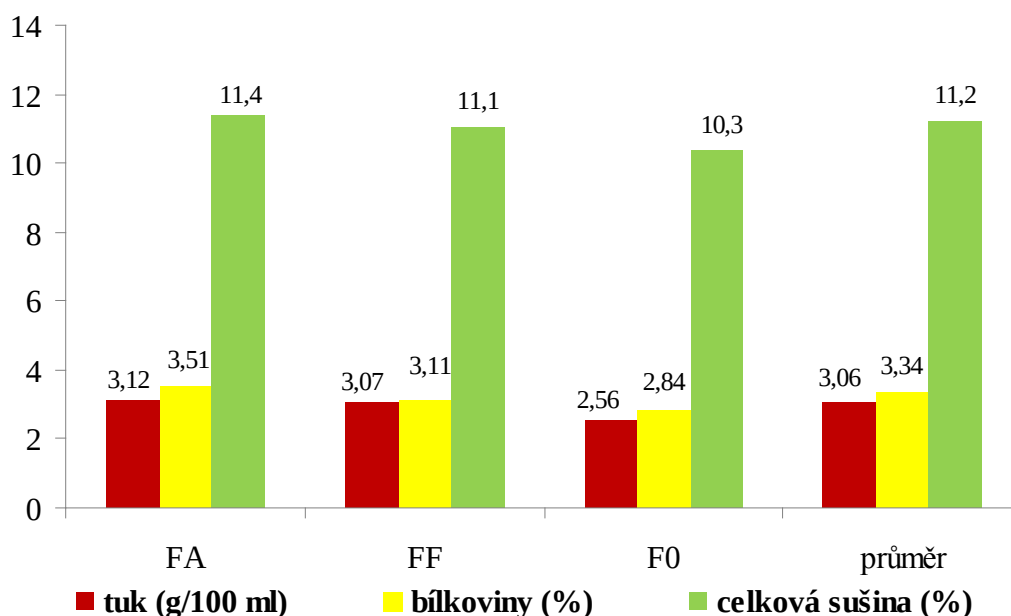
Tabulka 2: Výsledky obsahu tuku, celkové sušiny, výtěžnosti a kaseinového čísla v kozím mléce rozdělené podle genetické varianty α_{S1} -kaseinu.

genetická varianta α_{S1} -kaseinu	tuk	celková sušina	výtěžnost	kaseinové číslo
	(g/100 ml)	(%)	(SJ)	(%)
FA	3,12	11,4	3,31	74,3
FF	3,07	11,1	3,02	74,2
F0	2,56	10,3	2,78	71,6
průměr	3,06	11,2	3,18	74,2

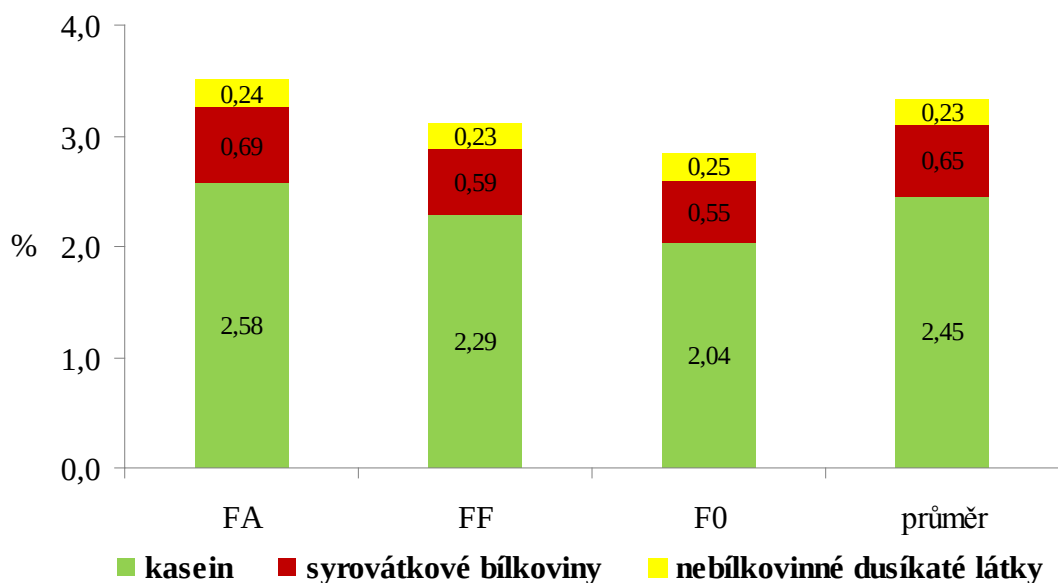
Poznámka: Výsledky v tabulce jsou uvedeny jako průměry jednotlivých stanovení pro danou genetickou variantu α_{S1} -kaseinu.

Tabulka 3: Výsledky naměřených minimálních a maximálních hodnot bílkovin, kaseinu, syrovátkových bílkovin a tuku pro jednotlivé genetické varianty α_{S1} -kaseinu.

α_{S1} -kasein	min F0	max F0	min FF	max FF	min FA	max FA
bílkoviny (%)	2,5	3,2	2,4	5,7	2,3	6,2
kasein (%)	1,7	2,3	1,7	3,9	1,6	4,0
syrovát. bílkoviny (%)	0,4	0,7	0,3	2,0	0,2	2,1
tuk (g/100ml)	1,5	3,4	1,3	4,9	0,9	5,9



Graf 1: Základní složení kozího mléka rozdělené podle genetické varianty α_{S1} -kaseinu.



Graf 2: Zastoupení dusíkatých látek kozího mléka rozdělené podle genetické varianty α_{S1} -kaseinu.

Závěr

Ve sledovaném souboru byly zjištěny tři genetické varianty α_{S1} -kaseinu (FA, FF a F0), jejichž zastoupení ve zkoumaném souboru zvířat bylo nerovnoměrné. Nejvíce zastoupená byla genetická varianta FA α_{S1} -kaseinu, která vykazovala nejvyšší obsah téměř všech stanovovaných složek mléka v porovnání s dalšími dvěmi genetickými variantami α_{S1} -kaseinu. Byla ověřena skutečnost, že v závislosti na typu genetické varianty α_{S1} -kaseinu se mění obsah některých složek mléka.

Byly také zaznamenány rozdíly v hodnotách výtěžnosti a kaseinového čísla u vzorků kozích mlék s odlišnou genetickou variantou α_{S1} -kaseinu. Hodnoty výtěžnosti a kaseinového čísla byly opět nejvyšší pro genetickou variantu FA α_{S1} -kaseinu.

Literatura

- CLARK, S. a J.W. SHERBON. Alphas1-casein, milk composition and coagulation properties of goat milk. *Small Ruminant Research*. 2000, č. 38, s. 123–134.
- ČERNÁ, E. a Z. CVAK. *Analytické metody pro mléko a mléčné výrobky*. Praha, 1986, str. 122.
- MARLETTA, D.; CRISCIONE, A.; BORDONARO, S.; GUASTELLA A.M. a G. D'URSO. Casein polymorphism in goat's milk. *Lait*. 2007, č. 87, s. 491–504.
- MOIOLI, B.; D'ANDREA M. a F. PILLA. Candidate genes affecting sheep and goat milk quality. *Small Ruminant Research*. 2007, č. 68, s. 179–192.
- SZTANKOÓVÁ, Z. Kozie mlieko verus genetický polymorfizmus. *Mliekarstvo*. 2006, č. 1, s. 31–32.
- TZIBOULA-CLARKE. *Goat Milk*. In Encyklopedia of Dairy Science, (Roginski H., Fuquay J. W., Fox P. F., eds.), str. 1274. London: Academic Press, 2003.
- VALENTI, B.; PAGANO, R.I. a M. AVONDO. Effect of diet at different energy levels on milk casein composition of Girgentana goats differing in CSN1S1 genotype. *Small Ruminant Research*. 2012, č. 105, s. 135–139.

Tato práce byla vytvořena za podpory výzkumného záměru MŠMT ČR MSM č. 2672286101 ve spolupráci s VÚŽV.

P 25**STANOVENÍ GALAKTOOLIGOSACHARIDŮ METODOU HPLC S REFRAKTOMETRICKOU DETEKCÍ**Pinkrová J.¹, Boháčenko I.¹, Kunová G.², Peroutková J.²¹⁾ Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i., Radiová 7, 102 31 Praha 10²⁾ Výzkumný ústav mlékárenský, s.r.o., Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6**ÚVOD**

V současné době se stále zvyšuje zájem o funkční potraviny, mezi které patří i potraviny se synbiotickým účinkem obsahující prebiotickou a probiotickou složku. Mezi prebiotika s vědecky prokázanými pozitivními fyziologickými účinky patří galaktooligosacharidy (GOS) (Roberfroid, 2007; Rudolflová a Čurda, 2005; Crittenden a Playne, 1996; Goulas a kol., 2007). Pro dosažení synbiotického benefitu ve smyslu zlepšení zdraví konzumenta je důležité zachovat v potravinách předem určené množství prebiotické a probiotické složky. Z tohoto důvodu je stanovení obsahu GOS velmi důležitým parametrem jakosti tohoto sortimentu potravin.

Galaktooligosacharidy (GOS) se průmyslově vyrábějí z laktosy transgalaktosylací účinkem β -galaktosidasy (Mahoney, 1998; Sako a kol., 1999), mají významné fyzikálně-chemické vlastnosti (zvyšují viskozitu výrobků, u mražených produktů ovlivňují bod tuhnutí, u tepelně zpracovávaných potravin nedochází k hnědnutí v důsledku Maillardových reakcí, zadržují vodu, čímž omezují projevy mikrobiální kontaminace výrobků, mohou být využívány jako inhibitory retrogradace škrobu) (Rudolflová a Čurda, 2005; Crittenden a Playne, 1996).

Množství a typ produkovaných GOS závisí na zdroji enzymu, koncentraci a charakteru substrátu, reakčních podmínkách, stupni konverze, pH, přítomnosti iontů kovů a na převažujícím anomeru laktosy. Plísňové β -galaktosidasy mají optimální pH 3,5-4,5, proto se využívají k hydrolýze kyselé syrovátky. Pro mléko nebo sladkou syrovátku jsou vhodné enzymy kvasinkové, jejichž optimální pH je 6,5-7,0 (Santos a kol., 1998).

Galaktooligosacharidy mají obecný vzorec:

α -D-Glc (1 $\rightarrow$ 4)-[β -D-Gal (1 $\rightarrow$ 6)]_n, kde n = 2-5.

V malém množství se však mohou vyskytovat i vazby β (1 $\rightarrow$ 3) nebo β (1 $\rightarrow$ 2).

Zastoupení GOS klesá v pořadí: disacharidy > trisacharidy > tetrasacharidy > vyšší oligosacharidy (Mahoney, 1998).

CÍL

Implementovat a interně validovat modifikovanou analytickou metodu HPLC s refraktometrickou detekcí na stanovení GOS.

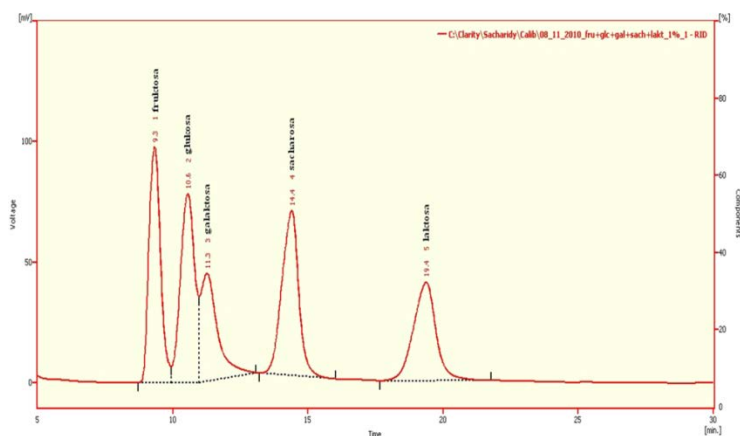
EXPERIMENTÁLNÍ PROVEDENÍ A VÝSLEDKY

Pro stanovení obsahu GOS v mléčných výrobcích byla navržena analytická metoda, která vznikla modifikací a interní validací AOAC metody 2001.02 „*Determination of trans-Galactooligosaccharide (TGOS) in Selected Foods Products*“. Princip implementované metody je založen na určení sumy glukosy, galaktosy a laktosy ve vzorku metodou HPLC s refraktometrickou detekcí před a po jeho hydrolýze β -galaktosidasou.

➤ Optimalizace chromatografických podmínek pro stanovení spektra sacharidů

- ✓ HPLC Agilent series 1100 (kvarterní pumpa, degasser, termostat kolon) + refraktometrický detektor YL 9170; chromatografická kolona *Lichrospher 100 NH₂* (fy Merck, Německo)
- ✓ mobilní fáze: acetonitril/demineralizovaná voda = 75/25 (obj.); průtok: 0,7 ml/min
- ✓ teplota kolony: 30 °C; teplota detektoru: 35 °C
- ✓ nástřik: 20 μ l; 50% přídavek čistého acetonitrilu ke vzorku

Při uvedených chromatografických podmínkách bylo na koloně *Lichrospher 100 NH₂* dosaženo dobré separace všech přítomných sacharidů (viz Obr. 1).



Obr. 1: Chromatogram směsného standardu (fruktosa, glukosa, galaktosa, sacharosa, laktosa).

➤ Složení a obsah sacharidových komponent v komerčních prebiotických preparátech

- ✓ Vivinal® GOS (fy FrieslandCampina Domo, Holandsko) - čirý, bezbarvý sirup, slabě nasládlé chuti;
- ✓ Oligomate 55NP (fy Yakult, Japonsko) - bílý, jemný, nasládlý, silně hygroskopický prášek.

Pro ověření složení byly připraveny roztoky komerčních prebiotických preparátů ve fosfocitrátovém pufru o obsahu 5 % GOS. Roztoky byly zahřívány 15 minut při 80 °C a po ochlazení se doplnilo demineralizovanou vodou na původní hmotnost. Po přefiltrování přes SPE kolonku Chromabond SB (fy Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Německo) a 50% přidavku acetonitrilu byly takto připravené roztoky použity k přímému nástřiku na kolonu pro stanovení obsahů volné glukosy, galaktosy a laktosy (glc_0 , gal_0 , lakt_0). Pro stanovení obsahu GOS bylo 2,5 ml původního roztoku podrobeno hydrolýze přidavkem 0,5 ml β -galaktosidasy (z *Aspergillus oryzae* G5160-25KU, fy Sigma-Aldrich) o aktivitě 300 U/ml při teplotě 40 °C po dobu 30 minut. Po přefiltrování přes SPE kolonku Chromabond SB a 50% přidavku acetonitrilu bylo provedeno HPLC stanovení glukosy a galaktosy po hydrolýze (glc_h , gal_h).

Pro výpočet procentického obsahu GOS byl použit následující vztah:

$$\text{GOS} = [1,2 * (\text{glc}_h + \text{gal}_h) - (\text{glc}_0 + \text{gal}_0 + \text{lakt}_0)] * 0,93;$$

kde je 1,2 faktor ředění vzorku při hydrolýze,

0,93 faktor přepočtu na obsah GOS o průměrném polymeračním stupni 4.

Průměrné výsledky pěti paralelních stanovení obsahů jednotlivých sacharidů v obou komerčních prebiotických preparátech jsou uvedeny v Tab. I. Při porovnání těchto hodnot s deklarovaným chemickým složením byla dosažena velmi dobrá shoda.

Tab. I: Porovnání nalezených průměrných a deklarovaných obsahů sacharidových komponent vzorků Vivinal® GOS a Oligomate 55NP .

Vivinal® GOS		
sacharid	průměrný obsah (% hm./suš.)	deklarovaný obsah (%/suš.)
glukosa	19,5	max. 22,0
galaktosa	2,3	min. 0,8
laktosa	25,5	max. 23,0
GOS	58,1	min. 57,0
Oligomate 55NP		
sacharid	průměrný obsah (% hm./suš.)	deklarovaný obsah (%/suš.)
glukosa	22,5	-
galaktosa	7,3	-
laktosa	14,4	-
Σ monosacharidů a laktosy	44,2	43,5
GOS	57,2	56,5

➤ Interní validace metody stanovení galaktooligosacharidů v mléce

Byly připraveny směsi komerčních prebiotických preparátů v odstředěném mléce s obsahem 5 % GOS, které byly zahřívány 15 minut při 80 °C a po ochlazení doplněny demineralizovanou vodou na původní hmotnost. Směsi byly dále deproteinovány (10 g směsi + 2,5 ml deproteinačního činidla + doplnění demineralizovanou vodou do 25 g), po 1 hodině stání při laboratorní teplotě byly zfiltrány přes papírový filtr. U takto získaných čirých roztoků byly provedeny následující analýzy:

- 1) stanovení obsahů volné glukosy, galaktosy a laktosy před hydrolýzou,
- 2) stanovení obsahů glukosy a galaktosy po hydrolýze β -galaktosidasou.

Ad 1) cca 1 ml vzorku byl přefiltrován přes SPE kolonku Chromabond SB a po 50% přidavku acetonitrilu použit k HPLC analýze (glc_0 , gal_0 , lakt_0); ad 2) k 1,25 ml vzorku bylo přidáno 0,5 ml β -galaktosidas o aktivitě 300 U/ml, směs byla inkubována při 40 °C 30 minut v třepací vodní lázni za mírného míchání. Po přefiltrování přes SPE kolonku Chromabond SB a 50% přidavku acetonitrilu byl vzorek použit k HPLC analýze (glc_h , gal_h).

Procentický obsah GOS byl pak vypočítán podle vzorce:

$$\text{GOS} = [3,33 * (\text{glc}_h + \text{gal}_h) - 2,5 * (\text{glc}_0 + \text{gal}_0 + \text{lakt}_0)] * 0,93;$$

kde je 3,33 faktor ředění vzorku při hydrolýze,

2,5 faktor ředění vzorku při deproteinaci,

0,93 faktor přepočtu na obsah GOS o průměrném polymeračním stupni 4.

Vybrané parametry interní validace pro sedm paralelních stanovení obsahu GOS ve směsích komerčních prebiotických preparátů s mlékem jsou uvedeny v Tab. II.

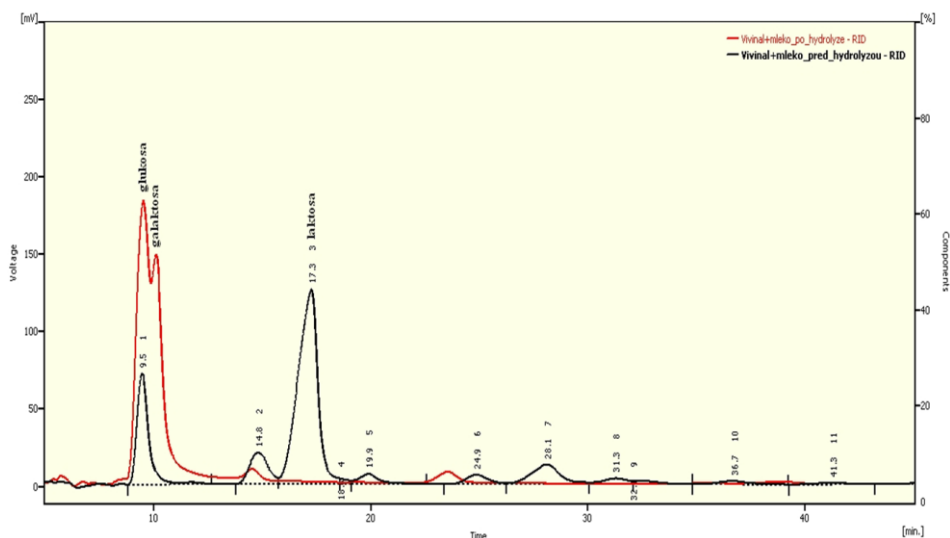
Tab. II: Vybrané parametry interní validace stanovení obsahů GOS ve směsích Vivinal® GOS, resp. Oligomat 55NP s mlékem.

Parametr	Vivinal® GOS	Oligomate 55NP
min. - max. hodnota (% hm.)	5,39 – 5,65	4,26 – 4,77
průměr (% hm.)	5,51	4,58
STD (% hm.)	0,12	0,20
U (% hm.)	0,24	0,40

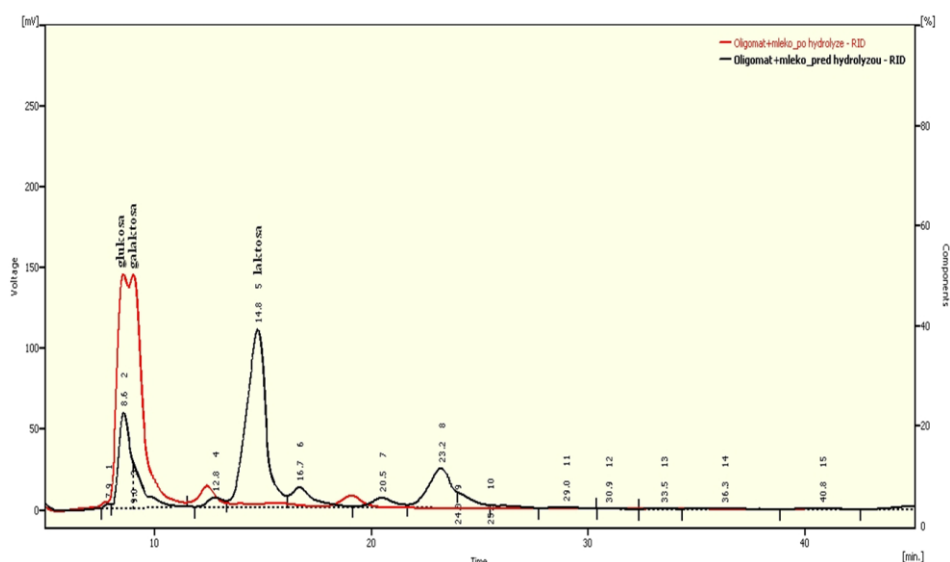
Pozn.: STD ... standardní směrodatná odchylka,

U ... rozšířená nejistota stanovení vyjádřená jako $\pm$ dvojnásobek STD.

Základním předpokladem úspěšné implementace metody byla totální hydrolýza GOS i laktosy na stavební složky (glukosu a galaktosu), což dokumentují chromatogramy po hydrolýze (viz Obr. 2 a 3 – červená linie), ze kterých je patrné, že se již píky laktosy i složek GOS nevyskytují.



Obr. 2: Spojené chromatogramy vzorků směsi Vivinal® GOS s mlékem _____ před hydrolýzou, _____ po hydrolýze.



Obr. 3: Spojené chromatogramy vzorků směsi Oligomate 55NP s mlékem _____ před hydrolyzou, _____ po hydrolyze).

ZÁVĚR

- Byla dosažena dobrá shoda obsahů GOS v komerčních preparátech s deklarovaným složením výrobce.
- V případě směsi mléka s Vivinalem® GOS činila rozšířená nejistota stanovení obsahu GOS $\pm 0,24$ % hm.; u směsi mléka s Oligomatem 55NP byla $\pm 0,40$ % hm.
- Výsledky jsou dobře srovnatelné s údajem mezilaboratorního hodnocení HPAEC-PAD metody publikovaného v AOAC metodě 2001.02, kde je uvedena standardní směrodatná odchylka stanovení obsahu GOS v jogurtových nápojích 0,41 % hm.
- Na základě získaných výsledků lze považovat implementaci modifikované metody na stanovení obsahu GOS v mléce pomocí HPLC s refraktometrickou detekcí za úspěšnou.

LITERATURA

- CRITTENDEN R. G., PLAYNE M. J. (1996): Production, properties and applications of food grade oligosaccharides. *Trends Food Sci. & Technol.*, **7**, 353–361.
- GOULAS A., TZORTZIS G., GIBSON G. R. (2007): Development of a process for the production and purification of α - and β -galactooligosaccharides from *Bifidobacterium bifidum* NCIMB 41171. *Int. Dairy J.*, **17**, 648–656.
- MAHONEY R. R. (1998): Galactosyl-oligosaccharide formation during lactose hydrolysis: a review. *Food Chem.*, **63**, 147–154.
- ROBERFROID M. (2007): Prebiotics: The concept revisited. *J. Nutr.*, **137**, 830–837.
- RUDOLFOVÁ J., ČURDA L. (2005): Prebiotický účinek galaktooligosacharidů a využití laktosy pro jejich produkci. *Chem. Listy*, **99**, 168–174.
- SAKO T., MATSUMOTO K., TANAKA R. (1999): Recent progress on research and applications non-digestible galacto-oligosaccharides. *Int. Dairy J.*, **9**, 69–80.
- SANTOS A., LADERO M., GARCÍA-CHOA F. (1998): Kinetic modeling of lactose hydrolysis by a β -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. *Enzyme Microbial. Technol.*, **22**, 558–567.

Práce byla provedena v rámci projektu NAZV QI91B274 „Výzkum a vývoj mléčných synbiotických fermentovaných výrobků“.

P 26**VYUŽITÍ PROBIOTICKÝCH KULTUR K PŘÍPRAVĚ KYSANÉHO ZELÍ**

Horsáková I., Duchová I., Ambrozková H., Čížková H., Václavíková E., Grégrová A., Rohlík B., Voldřich M.

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha

Produkce funkčních potravin s deklarovanou probiotickou aktivitou stále roste, kromě tradičních mléčných přípravků jsou probiotické kultury používány i do jiných potravinářských komodit, jako je maso a zelenina. Při našich prvních pokusech bylo testováno, zda jsou probiotické kultury schopny růst v zelí. Pro tyto pokusy byly použity kultury *Lactobacillus casei* (L-26) a *Bifidobacterium acidophilus* (LA5), *Lactobacillus animalis ssp. lactis* (Bb12). Byly připraveny tři paralelní kvasné pokusy s Bb12, L-26 a LA5. Po kultivaci bylo zjištěno, že kysané zelí s probiotickými kulturami má zvýšený obsah kyseliny mléčné a nižší obsah kyseliny octové než kontrolní vzorek. Také barva probiotických vzorků byla tmavší a měřená síla potřebná pro přežezání vzorků byly nižší. Výsledky senzorického hodnocení ukázaly, že kysané zelí s probiotickými kulturami má intenzivnější chuť a je šťavnatější. Po provedení pokusu v laboratoři byly tyto testy také provedeny v provozu. Bylo zaočkováno 50 l zelí směsnou probiotickou kulturou a po kultivaci (7 týdnů) bylo zelí porovnáno se zelím vyrobeným tradiční metodou. Prostřednictvím tohoto příspěvku jsou prezentovány výsledky kvality kysaného zelí s probiotickými kulturami vyrobeného v provozních podmínkách.

Příprava kysaného zelí:

- Zelí bylo zbaveno horních listů a košťálu a poté bylo nakrouháno
 - Bylo přidáno koření a sůl a bylo důkladně promícháno do uvolnění šťávy
 - Připravené zelí bylo rozděleno do dvou 50 l sudů
 - Do sudů byla přimíchána směsná kultura probiotických bakterií
 - Současně s přípravou probiotického zelí probíhala také příprava zelí klasicky kysaného
 - Fermentace probíhala 7 týdnů
 - Po dokončení fermentace bylo vyrobené zelí zabaleno do sáčku a sklenic a pasterováno
- Zelí pro pokusy bylo vyrobeno ve Slovácké Frutě, a.s. v Kunovicích

Probiotické kultury:

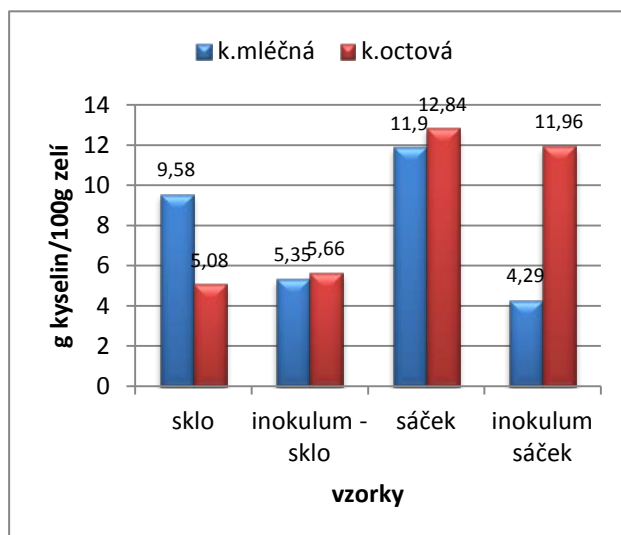
Lactobacillus acidophilus LA5

Lactobacillus casei L-26

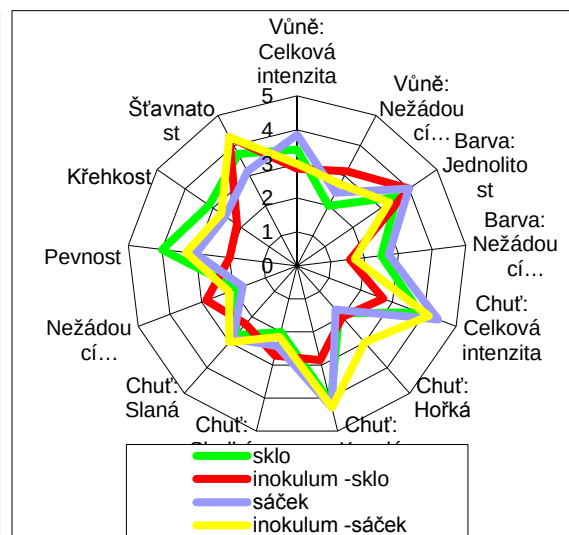
Bifidobacterium animalis ssp. lactis Bb12

Provedené rozborů:

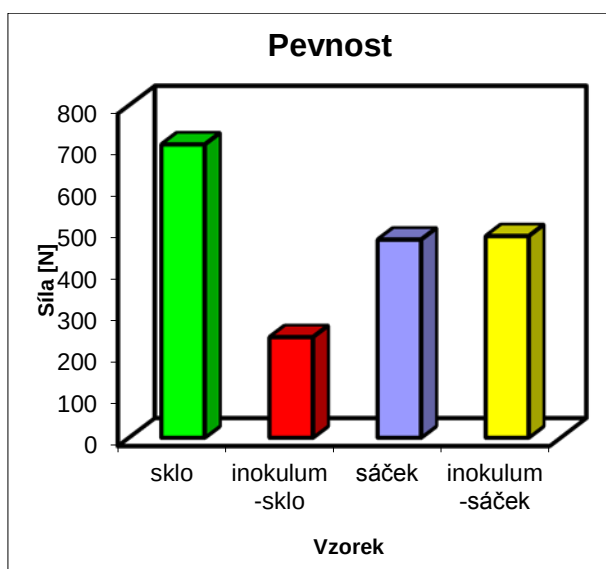
- Byly srovnávány vzorky zelí, které byly vyrobeny klasickým způsobem a vzorky s probiotickou kulturou. Tyto vzorky byly zabaleny dvěma způsoby a to do sáčků a do sklenic.
- Mikrobiologický rozbor byl prováděn na médiích: MRS, M-17, VRB, YGC
- Obsah kyselin byl stanoven pomocí Elektroforetického analyzátoru 101 Type
- Pevnost byla měřena použitím přístroje Instron (model 5544)
- Barva byla měřena použitím spektrofotometru CM-2600d (MINOLTA)
- Senzorické vlastnosti hodnotili pracovníci a studenti Ústavu konzervace potravin



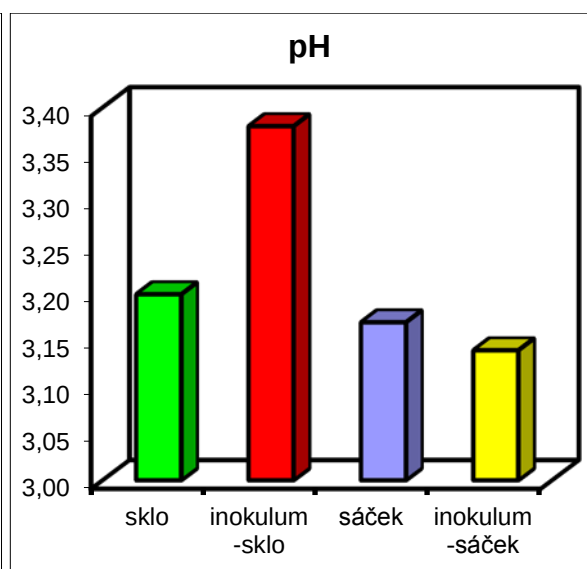
Obr. 1: Obsahy kyselin mléčné a octové kysaném zelí



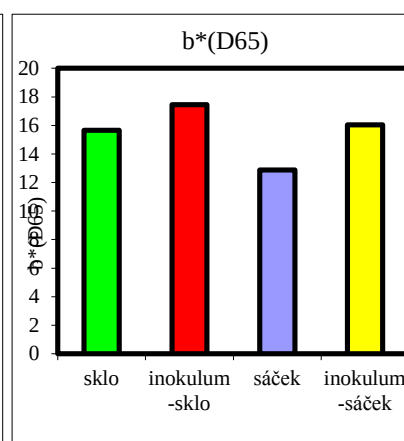
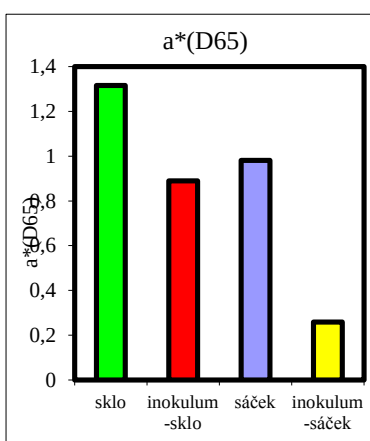
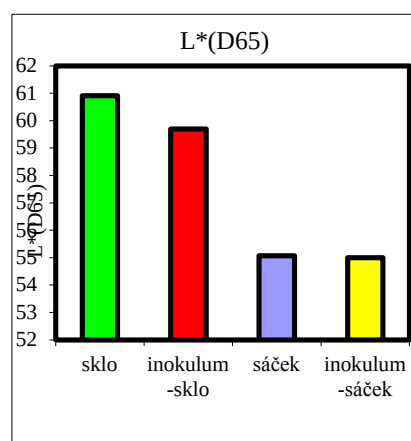
Obr. 6: Výsledky senzoričkého v hodnocení kysaného zelí



Obr. 4: Pevnost kysaného zelí - síla potřebná k proseknutí vrstvy zelí (1 cm) v Kramerově cele



Obr. 3: Hodnota pH u vzorků kysaného zelí



Obr. 5: Barva kysaného zelí

Označení vzorků v grafech:

Sklo – kysané zelí sterilované balené ve sklenici

Inokulum sklo – kysané zelí s probiotickou kulturou sterilované balené ve sklenici

Sáček - kysané zelí sterilované balené v sáčku

Inokulum sáček - kysané zelí s probiotickou kulturou sterilované balené v sáčku



Spektrofotometr CM-2600d (MINOLTA) – měření barvy



Přístroj Instron s nástavcem Kramerovou celou s pěti noži

Závěry:

- Vzorky kysaného zelí s probiotiky vyrobené v laboratorních podmínkách vykazovaly vyšší podíl kyseliny mléčné než kyseliny octové, kdežto u vzorků vyrobených v provozních podmínkách tento jev nebyl pozorován. U zelí baleného ve sklenici byl celkový obsah kyselin nižší a u zelí baleného v sáčku byl dokonce pozorován vyšší obsah kyseliny octové.
- Vzorek s inokulem balený ve skle také vykazoval vyšší hodnotu pH a nejnižší sílu potřebnou na přeseknutí 1 cm vrstvy ze všech zkoumaných vzorků. Tyto naměřené výsledky se také potvrdily senzoricky, kdy hodnotitelé hodnotili zelí s probiotickou kulturou balené ve skle jako nejméně kyselé a také jako vzorek s nejmenší pevností.
- Co se týče senzorických vlastností zelí s probiotickými kulturami, tak z výsledků hodnocení vyplývá, že toto zelí se hodnotitelům jeví jako šťavnatější a také u něj lépe hodnotili zbarvení, které bylo méně nežádoucí než u zelí vyrobeného klasickou metodou. Nepříznivé je však, že u tohoto zelí byla zaznamenána např. vyšší intenzita nežádoucích příchutí.
- Výsledky měření barvy ukazují, že zelí balené ve skle je světlejší než zelí, které bylo baleno v sáčcích.
- Tyto výsledky jsou zatím našim prvním pokusem výroby kysaného zelí s přídavkem probiotické kultury v provozních podmínkách.

LITERATURA:

Beganović J., Pavunc A.L., Gjuračić K., Špoljarec M., Šušković J. & Kos B., 2011. Improved sauerkraut production with probiotic strain *Lactobacillus plantarum* L4 and *Leuconostoc mesenteroides* LMG 7954. Journal of Food Science. Vol. 76, Nr. 2, p. 124–129.

Caplice E. & Fitugerald G.F., 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 50, p. 131–149.

Leroy F. & De Vuyst L., 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*. Vol. 15, p. 67–78.

Peñas E., Frias J., Sidro B. & Vidal-Valverde C., 2010a. Chemical evaluation and sensory quality of sauerkrauts obtained by natural and induced fermentations at different NaCl levels from *Brassica oleracea* Var. *capitata* Cv. Bronco grown in eastern Spain. Effect of storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 58, p. 3549–3557.

Peñas E., Frias J., Sidro B. & Vidal-Valverde C., 2010b. Impact of fermentation conditions and refrigerated storage on microbial quality and biogenic amine content of sauerkraut. *Food Chemistry*. Vol. 123, p. 143–150.

Rivera-Espinoza Y. & Gallardo-Navarro Y. Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*. Vol. 27, Is. 12, p. 1–11.

Yoon K.Y., Woodams E.E. & Hang Y.D., 2006. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*. Vol. 97, Is. 12, p. 1247–1430.

Burdychová R. & Hoferková P., 2008. Sledování počtu probiotických bakteriálních buněk *L. casei* ve fermentovaných tepelně neopracovaných salámech. *Acta Universitatis agriculturae et silviculturae Mendeliana Brunensis : Acta of Mendel University of agriculture and forestry Brno = Acta Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně*. sv. LVI, č. 2, s. 39–44. ISSN 1211-8516.

Projekt byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 21/2012) a MŠMT 6046137305

P 27**STABILITA A PREBIOTICKÝ ÚČINEK INULINU PŘIDANÉHO DO DĚTSKÝCH OVOCNÝCH VÝŽIV**Čížková H.¹, Rajchl A.¹, Horsáková I.¹, Šnebergrová J.¹, Kružík V.¹, Voldřich M.¹¹⁾ Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28, Praha 6**ÚVOD**

Současným trendem je obohacování potravin, včetně potravin určených pro děti, prebiotiky. Mezi ně se řadí i nestravitelný polysacharid inulin, který, vedle dalších účinků, selektivně stimuluje růst a modifikuje metabolickou aktivitu bifidobakterií a lactobacillů v tlustém střevě a tak zlepšuje zdraví konzumenta. V rámci předcházejících experimentů bylo zjištěno, že během výroby dětských ovocných výživ dochází v podmínkách kyselého pH a zvýšené teploty k poklesu obsahu původně přidaného inulinu o 40 až 80 %. Z výživového hlediska se vedle stanovení koncentrace intaktního inulinu ve finálním výrobku jeví významné i ověření prebiotické aktivity, kterou si, podle literatury, uchová i částečně hydrolyzovaný inulin. Cílem práce bylo zhodnocení míry degradace inulinu a jeho prebiotického účinku během výroby ovocných výživ fortifikovaných inulinem

MATERIÁL A METODY

Ověření vlivu záhřevu a pH na degradaci inulinu: Pro přípravu modelových vzorků v laboratoři bylo použito jablečné pyrė z maloobchodní sítě od výrobce Machland, Rakousko o složení: 95 % jablka, cukr, kyselina citrónová a askorbová. Do vzorků byl přidán inulin (70 g/kg, Orafiti). Vzorky byly umístěny do vodní lázně o teplotě 85 °C na dobu 30, 60 nebo 180 minut. Koncentrace inulinu byla stanovena metodou HPLC/RI (AOAC Official method 997.08- Fructans in Food Products).

Prebiotický účinek (tzv. prebiotic activity score) byl hodnocen na základě výsledků mikrobiologické kultivace kmenů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* v MRS bujonu s přidavkem extraktu s inulinem. Charakteristika použitého materiálu je uvedena v tabulce 1. Stanoven byl spektrofotometricky jako optická hustota (OD).

Prebiotic activity score =

$$\frac{\left[\frac{(OD \text{ probiotika na inulinu po } 24h - OD \text{ probiotika na inulinu v čase } 0h)}{(OD \text{ probiotika na glukose po } 24h - OD \text{ probiotika na glukose v čase } 0h)} \right] - \left[\frac{(OD \text{ střevní mikroflora na inulinu po } 24h - OD \text{ střevní mikroflora na inulinu v čase } 0h)}{(OD \text{ střevní mikroflora na glukose po } 24h - OD \text{ střevní mikroflora na glukose v čase } 0h)} \right]}{1}$$

Tabulka 1: Charakterizace použitého materiálu pro stanovení prebiotického účinku

Název použitého probiotika	Označení	Hlavní diagnostické znaky	Výskyt a význam
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA5	L26	produkuje kyselinu mléčnou jako hlavní nebo jediný produkt kvasného metabolismu a využívá laktosy jako hlavní zdroj uhlíku k výrobě energie, optimální teplota: 37°C	trávicí trakt lidí a zvířat, využívá se ve výrobě řady mléčných výrobků
<i>Lactobacillus casei</i> L-26	LA5	katalasanegativní, fakultativně heterofermentativní, sacharidy štěpí na kyselinu mléčnou, neredukuje nitráty, cytochromnegativní, optimální teplota: 30°C	trávicí trakt lidí a zvířat, použití - fermentované mléčné výrobky, siláže, farmaceutické preparáty s probiotickými účinky

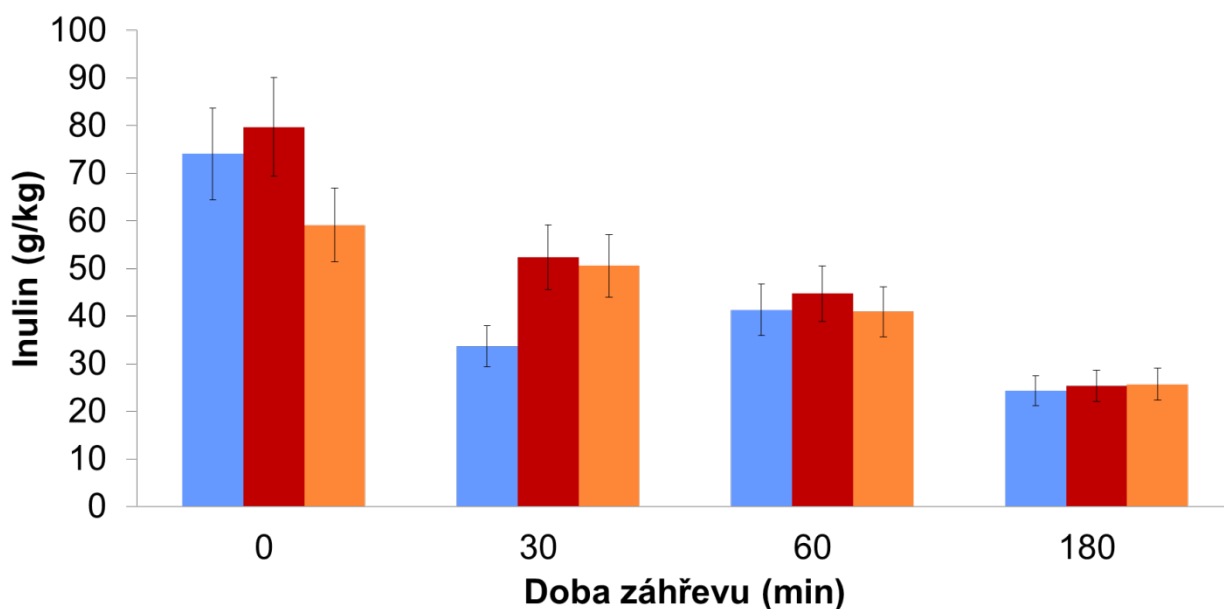
<i>Bifidobacterium animalis ssp. lactis Bb12</i>		BB12	katalasanegativní, fruktosa-6-fosfát-fosfoketolasapozitivní, sacharidy štěpí na kyselinu octovou a mléčnou v poměru 3:2, zkvašuje laktosu, nezakvašuje arabinosu, optimální teplota: 37 - 41°C	fekálie kojenců, fekálie sajících telat; použití - fermentované mléčné výrobky, probiotické preparáty
Materiál	Obsah inulinu	Mono a disacharidy	Průměrný stupeň polymerace (DP)	Technické vlastnosti
Orafti® GR	~92%	~8%	≥10	granulovaný inulin, hygroskopický, bílý prášek, původem z čekanky, oproti inulinu s nízkým DP lepší stabilita v kyselém prostředí

VÝSLEDKY A DISKUSE

Ověření vlivu záhřevu a pH na degradaci inulinu

Experimenty byly zaměřeny na potvrzení poklesu obsahu inulinu přidávaného do dětských ovocných výživ provedením modelových pokusů (přídavek známé koncentrace inulinu do standardního výrobku a tepelné ošetření) odpovídajícím reálným podmínkám výroby. Z naměřených výsledků vyplývá (obrázek 1), že během záhřevu dochází k poklesu koncentrace inulinu a to o 50 až 65 %, což zhruba odpovídá výsledkům získaným pro reálné vzorky.

Obrázek 1: Degradace inulinu během záhřevu (prezentace výsledků tří nezávislých, časově oddělených experimentů), tato měření simulují zpracování dětské ovocné výživy (stejně složení, pH, záhřev 85°C, variabilita v časovém namáhání 100 až 150 min)



Prebiotický účinek

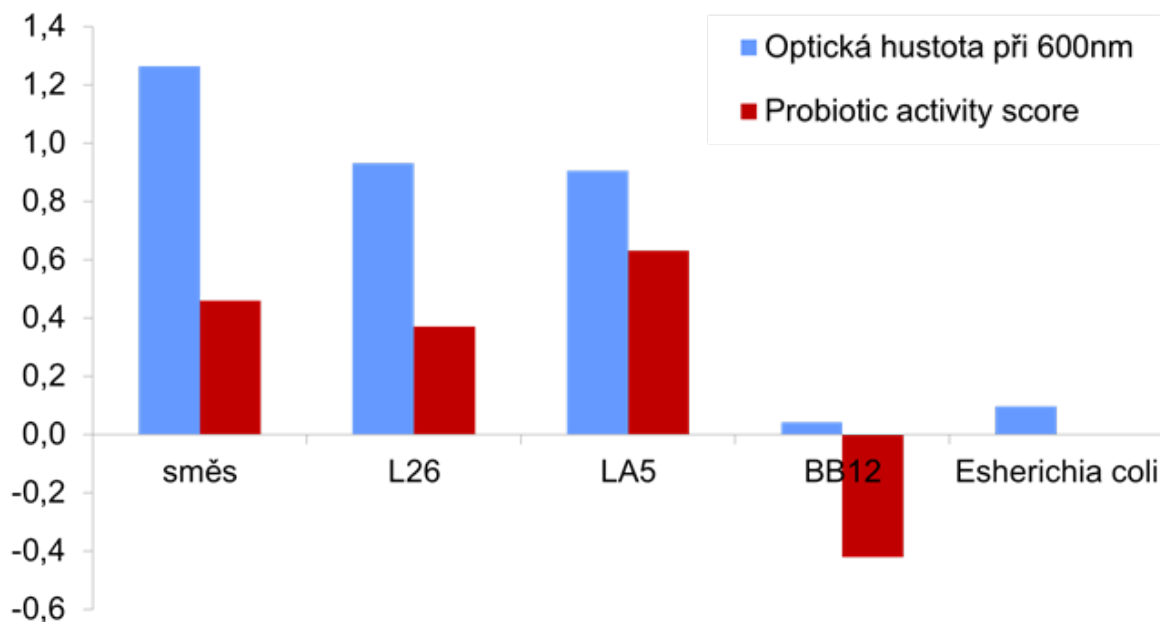
Metodika stanovení prebiotického účinku byla převzata od J. Huebner at al. (2008). Lze předpokládat, že substrát s vysokým prebiotickým účinkem podpoří růst probiotických bakterií srovnatelně jako glukosa (kontrola). Jako slepý vzorek je použit růst běžných střevních bakterií (zvolena *Escherichia coli*) na výše uvedených substrátech. Nárůst vybraných probiotických

mikroorganismů a *Esherichia coli* je uveden v tabulce 2 a vypočtené Prebiotic activity score na obrázku 2.

Tabulka 2. Nárůst mikroorganismů za 24 h (měřeno jako optická hustota při 600 nm, průměr z 6 měření)

Mikroorganismus	Čas	Inulin	Glukosa
Směs L26+ LA5+ BB22	0 h	0,005±0,026	0,000±0,000
	24 h	1,263±0,007	1,143±0,036
	rozdíl	1,258	1,143
L26	0 h	0,051±0,006	0,023±0,004
	24 h	0,932±0,018	1,082±0,046
	rozdíl	0,880	1,058
LA5	0 h	0,000±0,000	0,069±0,016
	24 h	0,905±0,023	0,903±0,019
	rozdíl	0,905	0,834
BB22	0 h	0,000±0,000	0,006±0,003
	24 h	0,042±0,019	0,961±0,111
	rozdíl	0,042	0,955
<i>Esherichia coli</i>	0 h	0,004±0,003	0,005±0,002
	24 h	0,097±0,005	0,178±0,010
	rozdíl	0,093	0,173

Obrázek 2: Prebiotický účinek vyjádřený jako nárůst jednotlivých kmenů a prebiotic activity score



ZÁVĚR

Experimentálním stanovením bylo potvrzeno, že během záhřevu v kyselém prostředí dochází k značnému poklesu (o 50 až 65 % původní hodnoty) obsahu do dětských ovocných výživ přidaného inulinu. Prebiotický účinek použitého inulinu, tzv. prebiotic activity score, odpovídá literárním údajům, kde jsou pro komerční prebiotika a kmeny lactobacillů uváděny hodnoty 0,4 až 0,5 a pro vybrané bifidobakterie záporné hodnoty. Z literárních údajů lze také pro podmínky zpracování

dětské výživy a typ použitého inulinu odvodit následující vliv na prebiotickou účinnost: pH a tepelné namáhání – pokles o 45 až 60 %, Maillardova reakce – bez vlivu. Z výše uvedeno vyplývá, že prebiotický účinek kopíruje koncentraci intaktního inulinu, tj. prebiotický účinek degradačních produktů inulinu je nevýznamný.

PODĚKOVÁNÍ: Výzkum vznikl z podpory projektů MŠMT 6046137305, Mze Q191B283 a firmy Hamé a.s.

POUŽITÁ LITERATURA

Vliv technologického zpracování na osud nutričně významných látek a kontaminantů v dětské a kojenecké výživě, Michal Voldřich, Čížková Helena, Kvasnička František, Ševčík Rudolf, Urbančíková Zdeňka, Rajchl Aleš:, Periodická zpráva projektu 2B06118 NPV2 (2011).

Ch. M. Courtin at al.: Heat and pH stability of prebiotic arabinoxyloligosaccharides, xylooligosaccharides and fructooligosaccharides, Food Chemistry, 112, 2009, 831-837

J. Huebner at al.: Effect of processing conditions on the prebiotic activity of commercial prebiotics, International Dairy Journal, 18, 2008, 287-293

C. Blecker et al.: Kinetic study of the acid hydrolysis of various oligofructose samples, J Agric Food Chem. 50, 2002, 1602-7

H. Hoebregs: Fructans in foods and food products, ion-exchange chromatographic method: collaborative study. J Assoc Off Anal Chem Int., 1997, 1029-37

D.F.Keen at al.: Evaluation of thermal and high hydrostatic pressure processed apple purees enriched with prebiotic inclusions, Innovative Food Science & Emerging Technologies, 12, 2011, 261-268

P 28**IMPLEMENTACE NOVÝCH POZNATKŮ DO POSTUPU STANOVENÍ SIŘIČITANŮ V POTRAVINÁCH**Mukařovská V.¹, Čížková H.¹, Rajchl A.¹, Ševčík R.¹, Šnebergrová J.¹, Voldřich M.¹¹Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28, Praha 6**ÚVOD**

V současné době je moderní produkovat přirozené a čerstvé potraviny nahrazením nebo úplným vyloučením aditiv. Tento trend může být důvodem falšování potravin, kdy se do potravin s tvrzením „bez přidaných aditiv“, aditiva přidávají v malém množství, a dochází tak ke klamání spotřebitele, obchodním sporům či projevu alergických reakcí konzumentů. Častým předmětem kvantitativních a kvalitativních kontrol aditivních látek jsou siřičitany, které díky všestranným účinkům silně konkurují jiným konzervačním aditivům (kyselina benzoová a kyselina sorbová).

Množství a druh siřičitanů je regulován příslušnou evropskou i českou legislativou. V České republice upravuje jejich použití vyhláška č. 4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin v posledním znění. Nejvyšší povolený limit je stanoven pro sušené meruňky, broskve, vinné bobule, švestky a fíky (2000 mg/kg). Nařízením Komise EU č. 1129/2011 je stanoven pro siřičitany v potravinách - vyjádřených jako SO₂ - limit 10 mg/kg, při jehož překročení je povinnost výrobců označovat přítomnost siřičitanů na obalech potravin a nápojů.

Oxid siřičitý se do potravin přidává nejčastěji ve formě anorganických solí. Jedná se o 8 chemických sloučenin schválených EU a označených kódy E 220 až E 224 a E 226 až E 228:

- | | |
|---------------------------------|-------------------------------------|
| • E 220 oxid siřičitý | • E 224 disiřičitan draselný |
| • E 221 siřičitan sodný | • E 226 siřičitan vápenatý |
| • E 222 hydrogensiřičitan sodný | • E 227 hydrogensiřičitan vápenatý |
| • E 223 disiřičitan sodný | • E 228 hydrogensiřičitan draselný. |

Tyto látky se v potravinách souhrnně vyjadřují jako SO₂ v mg/kg nebo v mg/l. Oxid siřičitý se v potravinách vyskytuje v dvojí formě – volné a vázané, která je ovlivněna technologickými a skladovacími podmínkami. Aktivita siřičitanů se mění v závislosti na obsahu vody a pH v potravinách. Například v masných výrobcích je prokázána až 50% ireversibilní ztráta přidaných siřičitanů.

Siřičitany se do potravin přidávají za účelem prodloužit dobu údržnosti a zlepšit senzorické parametry potravin. Siřičitany mají řadu pozitivních účinků – antimikrobiální, antioxidační, oxidačně – redukční, nebo bělicí. Vedle pozitivních účinků je prokázáný toxický efekt. U citlivých osob jsou siřičitany příčinou alergických reakcí. Vážně ohroženou skupinou jsou zejména astmatici. Míru alergické reakce ovlivňuje vázanost nebo nevázanost oxidu siřičitého, kdy volná forma je účinnější. Například na listy hlávkového salátu se siřičitany váží málo - alergizující aktivita salátu je proto velká. Naproti tomu siřičitany přidávané k sušeným bramborám jsou většinou vázané, takže i při podobném celkovém množství siřičitanů vůči salátu je riziko vyvolání alergické reakce malé. Je prokázáno, že siřičitany snižují aktivitu vitaminu B1 obsaženého např. v mase. Proto přídavek siřičitanů do masa je v některých zemích (USA) zakázán.

Podle 16. vydání AOAC existuje 11 rozdílných analytických metod pro stanovení siřičitanů (např. titrace, destilace s N₂, destilace s vodní parou, spektrofotometrie, FIA, HPLC, enzymatické metody). Oficiální metodou je AOAC 990.28 (Monier-Williamsova). Ne každá metoda je vhodná pro všechny typy potravinářských výrobků (ovlivněno zejména maticí, formou vaznosti a širokým rozsahem použitých koncentrací). Vzhledem k téžavé a silně oxidačně-redukční povaze siřičitanů je významný i správný odběr vzorku a dostatečná homogenizace.

Cílem práce bylo posoudit obslužnost a funkčnost destilačního přístroje K-355 (Büchi). SO₂ byl stanoven po destilaci s vodní parou jodometrickou zpětnou titrací. Výsledky byly porovnány

s hodnotami naměřenými pomocí modifikované Monier-Williamsovy metody (destilace s N₂ a následná acidobazická titrace). Jako matrice byly zvoleny vzorky sušeného ovoce, které je často dováženo z třetích zemí, kde hrozí nedodržení českých limitů, a běžné konzervářské výrobky.

MATERIÁL A METODY

Stanovení obsahu siřičitanů v potravinách bylo provedeno dle aplikačního listu Application No. K-355 011 V.1.0 Copyright 2008 Büchi Labortechnik AG. Podle aplikačního listu je doporučeno destilát titrovat automaticky na titrační jednotce Metrohm DMP 785. Námi stanovená analýza byla provedena manuální titrací s vizuálním posouzením bodu ekvivalence (škrobový maz). Optimalizace a ověření metody destilace s vodní parou a následná jodometrická titrace byla provedena nejprve na standardu pyrosiřičitanu sodným o několika různých koncentracích (10, 20, 30, 100, 500, 1000, 2700 mg/l), jenž byl přidán formou roztoku k matrici. Nakonec byly analyzovány vzorky z tržní sítě (sušené meruňky, hrozinky, kysané zelí, hořčice), které byly zároveň analyzovány modifikovanou Monier-Williamsovou metodou.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Co se týká technologických parametrů destilační jednotky K-355, lze konstatovat jednoduchou manuální obslužnost a téměř bezproblémový chod, avšak za předpokladů dodržení doporučené údržby. Některé výhody a nevýhody použití jsou uvedeny níže v textu.

Optimalizace byla provedena nejprve na standardu pyrosiřičitanu sodným, jenž byl následně přidán k matrici. Byla stanovena mez detekce a kvantifikace (LOD 5 mg/kg, LOB > 2000 mg/kg a LOQ 15 mg/kg), výtěžnost (90-100%) a opakovatelnost (RSD 3-20 %). Závislost výtěžnosti při aplikaci různých koncentrací pyrosiřičitanu sodného je znázorněna v grafu č. 1. Nevýhodou použití pyrosiřičitanu sodného je jeho oxidační nestabilita, takže výsledky se mění v čase od přípravy roztoku, tím je ovlivněna i LOD a LOB. Uvedené optimalizační parametry jsou ovlivněny typem matrice, čistotou přístroje, správným nastavením výkonu páry, dobou destilace a prací operátora.

Ověřená metoda byla využita k analýze souboru vzorků z tržní sítě. Průměrné výsledky jsou uvedeny tabulce č.1.

V porovnání s výsledky měření modifikovanou Monier-Williamsovou metodou (destilací s dusíkem) docházelo však vždy k nadhodnocení výsledků (korelační koeficient R² = 0,987, korelační rovnice: $y = 0,98x - 143,08$), což bylo neakceptovatelné zvláště v případě vzorků s nulovým nebo velmi nízkým reálným obsahem oxidu siřičitého. Příčinou je pravděpodobně relativně velká nejistota ve slepém stanovení nezreagovaného jodu, případně i přítomnost glukosinolátů a dalších látek, které za podmínek stanovení mohou reagovat s jodem a způsobovat falešně pozitivní výsledek.

Vybrané poznatky při práci s destilační jednotkou K-355

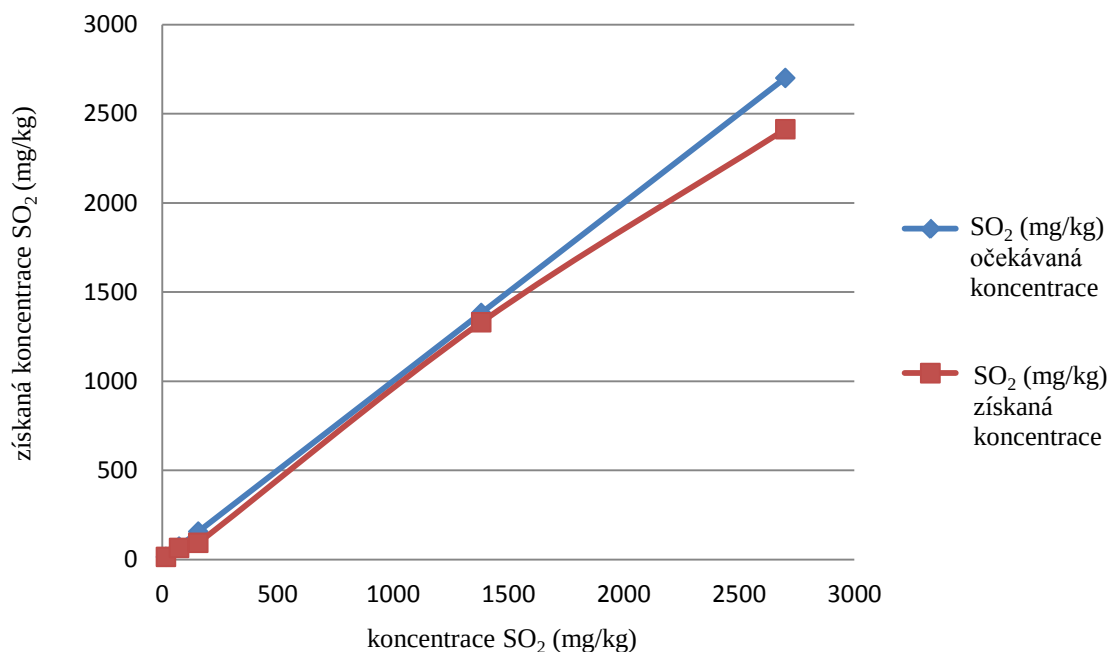
Výhody použití

- Místní nenáročnost
- Časová nenáročnost
- Snadná manuální obslužnost
- Regulace doby a výkonu páry
- Automatické zobrazení chyb na displeji
- Aplikace reagentů z dávkovače
- Ochranná dvířka proti popálení při případném úniku horké páry
- Destilace siřičitanů, alkoholu, těkavých látek, fenolů, formaldehydu, TVB-N apod.
- Aplikační listy

Nevýhody použití

- Snadná údržba
- Únik těkavých (pachových) látek – vhodnější je umístění v digestoři
- Nemožnost přímé navážky do speciálních zkumavek (důkladné kvantitativní převedení)
- Doplnění zásobníku na destil. vodu (přehřívání)
- Možnost opaření vodní parou
- Falešně pozitivní výsledek (rozklad glukosinolátů apod.)
- Častější opotřebování těsnicí gumy

Graf č. 1 Závíslost výtěžnosti na různých koncentracích roztoku pyrosiřičitanu sodného



Tabulka č. 1 Obsah siřičitanů ve vybraných potravinách stanovených jodometricky

Obsah SO ₂ ve vybraných vzorcích potravin				
Vzorek		Obsah SO ₂ (mg/kg)	RSD (%)	Limit (mg/kg)*
sušené meruňky, sířené	A	1774,8	7,5	2000
sušené meruňky, sířené	B	1885,7	8,2	
sušené meruňky BIO, nesířené	A	102,1	6,0	10
hrozinky, nesířené	A	322,4	14,0	10
sušená jablka, kroužky	A	776,7	2,6	600
brambory syrové, loupané	A	74,9	4,5	50
bílé zelí, zavařované	A	198,5	2,6	50 - 100**
bílé zelí, zavařované	B	159,5	3,4	
bílé zelí, zavařované	C	116,8	1,9	
hořčice speciální	A	180,7	4,8	250
hořčice speciální	B	188,5	5,0	
hořčice speciální	C	176,9	4,2	
hořčice speciální	D	165,5	6,6	

* maximálně povolený limit v mg/kg dle vyhlášky č. 4/2008, kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin v posledním znění.

** 50 pro zpracovanou zeleninu bílé barvy, 100 pro zeleninu v nálevu

ZÁVĚR

Analýza siřičitanů za použití destilační jednotky K – 355 klade nízké nároky na obsluhu a je časově nenáročná (3 x rychlejší než destilace s dusíkem). Má výbornou výtěžnost, ale, zvláště u složitých matic, nižší opakovatelnost. Významnou nevýhodou je možnost vzniku falešně pozitivních výsledků. Správnost stanovení je velmi ovlivněna maticí, přípravou vzorků a přesným stanovením slepého vzorku.

PODĚKOVÁNÍ

Projekt byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum MŠMT č. 21/2012. Děkuji odborným pracovníkům Ústavu konzervace potravin (VŠCHT) za cenné rady.

POUŽITÁ LITERATURA

- ALMEIDA, P. J., RODRIGUES, J. A., GUIDO, L. F., SANTOS, J. R., BARROS, A. A., FOGG, A. G., Voltametric Determination of Free and Total Sulfur Dioxide in Beer, *Electroanalysis*, 15, 587–590, 2003
- DVOŘÁK, J., DOSTÁLEK, P., ŠTĚRBA, K., ČEJKA, P., KELLNER, V., ČULÍK J., BEINROHR, E., Determination of total sulphur dioxide in beer samples by Flow-through Chronopotentiometry, *J. Inst. Brew.* 112, 308–313, 2006
- EPA, United States Environmental Protection Agency, 2012, [cit. 2012-05-13], Dostupný z: <<http://www.epa.gov/ebtpages/pollairposulfuroxidessox.html>>
- JIMENEZ-COLMENERO, F., BLAZQUEZ SOLANA, J., Sulfur dioxide in meat, *Handbook of processed meats and poultry analysis*, Chapter 5. Additives: Preservatives, CRC Press 2008, E. by Leo M. L. Nollet and Fidel Toldrá, 91-108, 2009
- NICHOLAS, P. F., REED, H. M., Distillation Methods for Determination of Sulfur Dioxide, *Analytical Edition*, 4, 79-84, 1932
- OUGH, C. S., WERE, L., Sulfur dioxide and sulfites, *Antimicrobials in Food*, 143, 2005
- STONYS DB., Determination of sulfur dioxide in foods by modified Monier-Williams distillation and polarographic detection, *Journal – Association of official Analytical Chemists*, 70, 114-117, 1987, [cit. 2012-05-13], Dostupný z: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3558261>>
- VASILE, M., Sulfites and food, toxicity and hypersensitivity, *Proceeding of the International Conference BIOATLAS 2010 Transilvania University of Brasov, Romania*, 63-65, 2010

P 29**MEZIROČNÍ SROVNÁNÍ SKLADOVANÝCH JABLEK Z HLEDISKA OBSAHU ALERGENU MAL D1**Prošková A.¹, Kmínková M.¹, Honzová S.², Šetinová I.², Paprštejn F.³

- 1) Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.,
- 2) synlab czech s.r.o.
- 3) Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.

Jablka patří mezi nejpěstovanější a nejrozšířenější ovoce ve střední Evropě a i v naší republice patří mezi ovoce s největší tradicí a produkcí. Bohužel asi u milionu Evropanů vyvolává konzumace jablek alergické potíže. Jablka obsahují několik alergenů, z nichž ve střední a severní Evropě je nejrozšířenější citlivost na alergen Mal d1 pravděpodobně vzhledem k vysoké sekvenční homologii s alergenem břízy Bet v1. Výběr odrůd se sníženým obsahem tohoto alergenů a způsob skladování může významně pomoci ke snížení těchto potíží u citlivých jedinců. Citlivost na alergen Mal d1 byla sledována u vybraných odrůd jablek ze sklizně 2009 a 2010 skladovaných vždy do do jara následujícího roku ve třech režimech skladování. Alergenicitu jablek byla sledována elektroforezou SDS-PAGE a imunochemickou metodou Western blot (Pastorello E.A. et al., 1999, Ferrer A. et al., 2005, Cudowska B. et al., 2005) se séry pacientů, projevujících alergií na jablko.

Materiál a metody*Materiál*

V roce 2010 bylo testováno 17 odrůd jablek, a to Angold, Booskopské, Florina, Gala, Gloster, Golden Delicious, Hetlina, Chodské, Idared, Jonagold, Meteor, Panenské české, Pinova, Resista, Rubín, Rubinstep a Topaz, v roce 2011 bylo testováno opět 17 následujících odrůd, a to Angold, Booskopské, Braeburn, Ecolette, Florina, Gala, Gloster, Golden Delicious, Hetlina, Jonagold, Melrose, Panenské české, Priscilla, Resista, Rubín, Santana a Topaz vypěstovaných v sadech VŠUO Holovousy s.r.o. Všechny odrůdy uvedených jablek byly po sklizni uloženy ve 3 variantách skladování, a to sklep (4-8°C), skladovací box (2°C) a za použití technologie ULO (Ultra Low Oxygen). Použité chemikálie a imunochemikálie byly od firmy SIGMA-Aldrich, standard alergenů Mal d1 od firmy Biomay AG.

Přístroje

Odšťavňovač Champion 2000+ (USA, California), vertikální elektroforéza - zařízení Mini V 8.10, pro blot - blotovací zařízení Mini-Twin firmy Biometra, třepačka na gely Biometra, stolní chlazená odstředivka pro přípravu vzorků Hettich 32R, spektrofotometr UV-Vis PU 8700 Philips, mrazicí box na - 30°C a chladnička Elektrolux pro chlazení průběhu elektroforesy.

*Metody***SDS-PAGE elektroforeza a Western blot**

Vzorky šťáv z jednotlivých odrůd byly nanášeny na gel a rozděleny v elektrickém poli. Takto rozdělené bílkoviny byly blotovány technikou Western blot na nitrocelulosové membrány a vyvolány imunoreakcí pomocí směsného séra nejlépe reagujících pacientů. Po vizualizaci bylo množství Mal d1 zjištěno graficky pomocí softwaru Elfoman 2.5. Bílkoviny byly stanovovány metodou dle Bradforda.

Postup

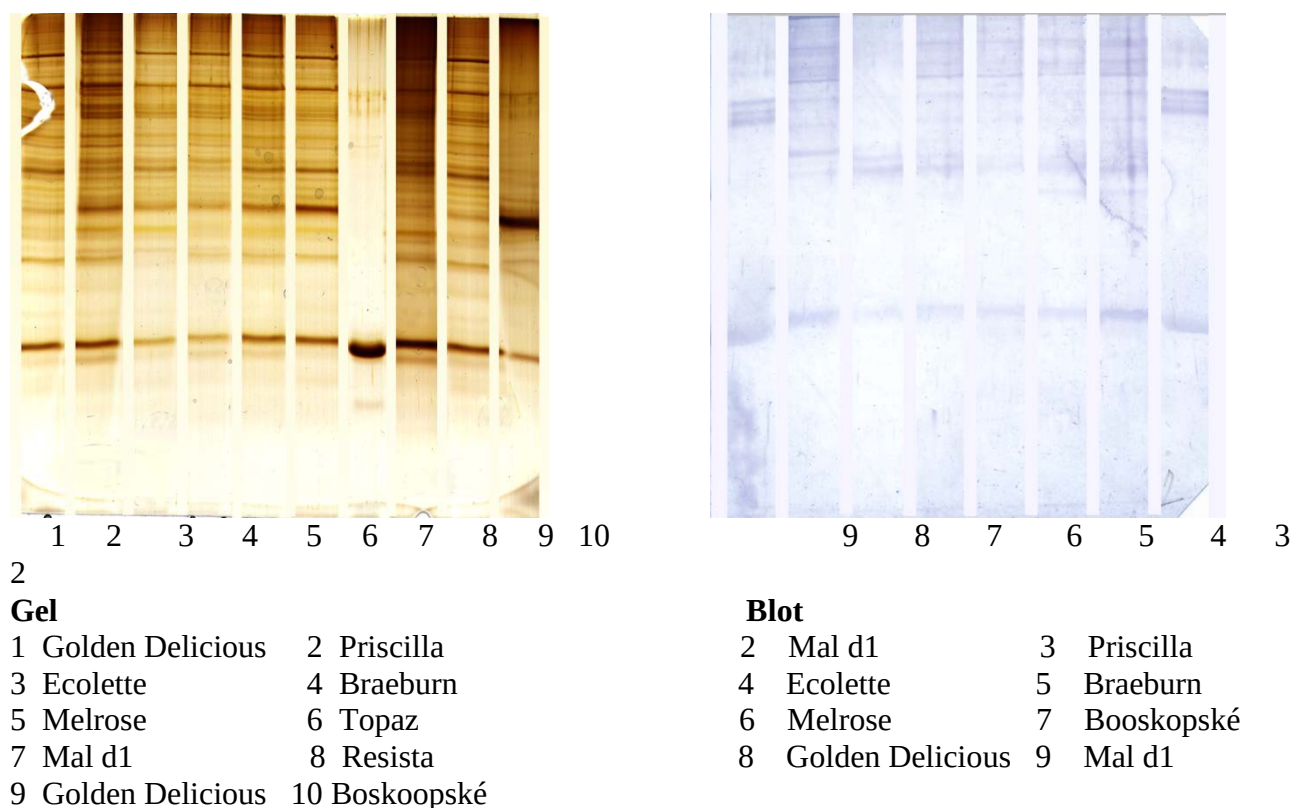
Jablka byla rozkrájena i se slupkou na menší části a ihned ponořena do 3% kyseliny askorbové na 10 min. Byla ponechána na sítku okapat a poté vylišována na odšťavňovači. Získaná šťáva byla přefiltrována přes mulovou tkaninu, rozplněna do sáčků po 30 až 50 g a ihned zamrazena na minus 30°C a uschována do dalšího zpracování. Pro vlastní elektroforézu bylo ze zmrazeného vzorku

šťávy odebráno odpovídající množství a po opatrném pomalém rozmražení byl přidán pufr 10 mM fosforečnan draselný, pH 7,0 s přídavkem 10 mM DIECA (diethyldithiocarbamat, sodná sůl), 2mM EDTA-sodná sůl, 2% susp. PVPP (polyvinyl polypyrrolidon) v poměru 2:1 (extrakt:pufr) pro ochranu alergenu. Po úpravě pH byl vzorek odstředěn při 18 000 ot./min, 8°C, 15 min. . Elektroforesa byla prováděna v redukujících podmínkách, byly přidány 2% SDS, 10% sacharosy, 5% mercaptoethanolu a barevný marker - bromfenolová modř. Pro vlastní blotování se gel po elektroforéze ponoří na 20 min do vychlazeného transfer pufru pH 8,3. Podmínky blotování byly následovné - pufr glycin-methanol, pH 8,3, konstantní proud 450 mA, chlazení vodou v průtoku max. 1litr/hod, doba transferu 3 hod. Po blottingu a vyjmutí z přístroje se membránka před dalším postupem dobře osuší na vzduchu. Pro imunoreakci k identifikaci alergenu Mal d1 ve šťávě jablek bylo použito čerstvé směsné sérum senzitivních osob.

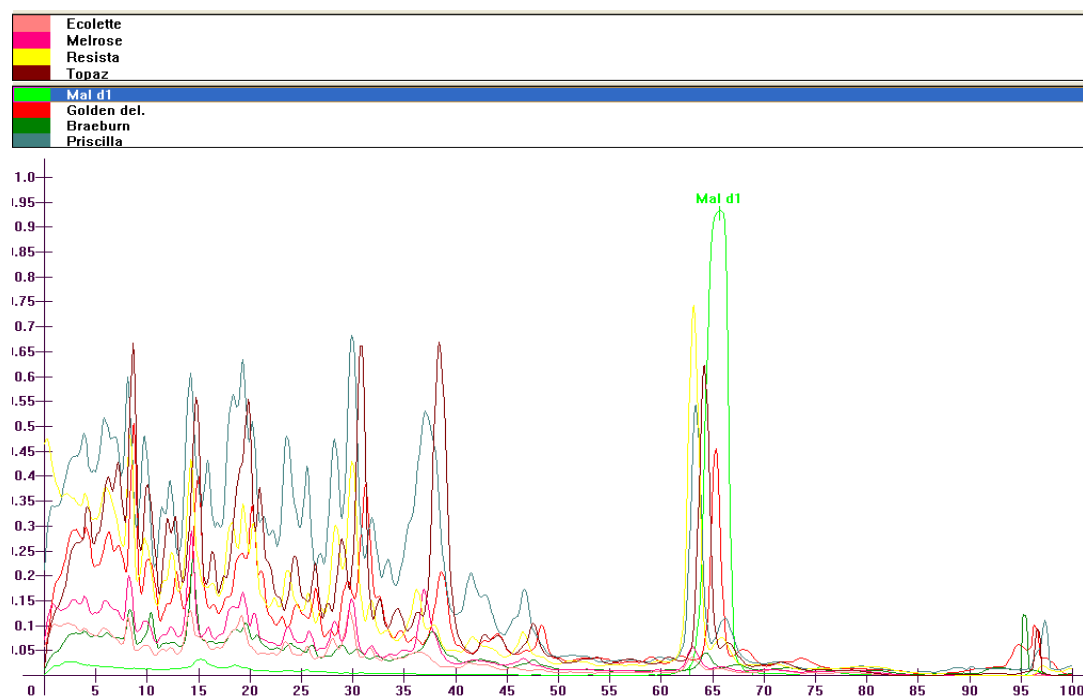
Výsledky

Zhodnotíme-li výsledky skladování za 2 roky analyzované jak metodou Western blot, tak elektroforetický, jako vysoce alergenní vycházejí vždy odrůdy Resista, Priscilla a Angold. Mezi odrůdy s nejnižší aktivitou alergenu Mal d1 patří Panenské české a Ecolette. Dále by se mezi nízkoalergenní odrůdy z hlediska Mal d1 po skladování stanovené metodou Western blot mohly zařadit odrůdy Booskopské, Braeburn, Melrose, Santana a Hetlina. Zbylé sledované odrůdy lze zařadit spíše jako průměrné. Příklady elektroforéz, blotu a jejich grafické vyhodnocení je znázorněno na obr. 1 a grafu 1.

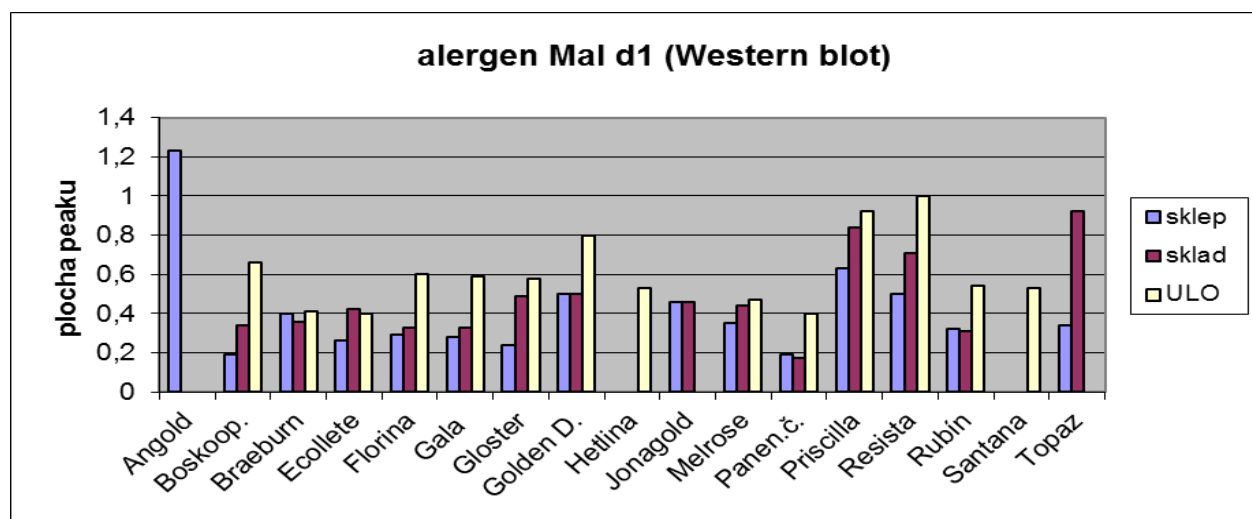
Z hlediska způsobu skladování bylo dosaženo nejmenších hodnot alergenu Mal d1 po skladování ve sklepě, naopak nejvyšší hodnoty jsou po skladování v systému ULO. Veliká variabilita mezi jednotlivými způsoby skladování, hlavně dle elektroforéz se objevila především u odrůd Topaz, Rubín, Florina a Gala (viz obr.2 a 3).



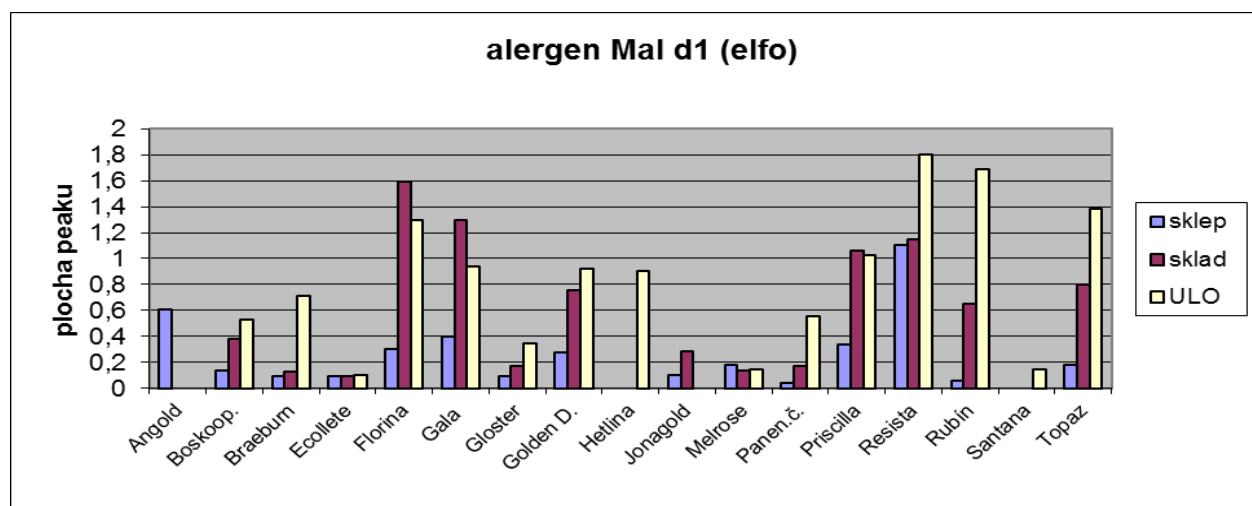
Obr. 1. Příklady gelu a blotu vybraných vzorků odrůd jablek po skladování v režimu sklep (4-6°C)



Graf č. 1 Grafické vyhodnocení peaku Mal d1 – sklad (gel)



Obr. 2. Skladovaná jablka analyzovaná metodou Western blot na jaře 2011, ze sklizně 2010



Obr. 3. Skladovaná jablka analyzovaná SDS-PAGE elektroforézou na jaře 2011, ze sklizně 2010

Závěr

Z hlediska způsobu skladování je nutno konstatovat, že u všech odrůd skladovaných v řízené atmosféře byly výraznější reakce na přítomnost alergenu Mal d1 jak v SDS-PAGE elektroforéze tak u metody Western blot než u jablek skladovaných pouze ve skladovacím boxu za teploty 2°C nebo ve spotřebitelském sklepe. Z tohoto pohledu má řízená atmosféra ochranný vliv i na obsah sledovaného alergenu Mal d1, což je ale z hlediska alergiků nežádoucí. Řízená atmosféra se sníženým obsahem kyslíku má ochranný účinek na obsah kyseliny askorbové, která sekundárně chrání labilní alergen Mal d1 před inaktivací.

Literatura

- Bradford M. M., Analytical Biochemistry 72, 248-254, 1976
Cudowska B. et al., Roczn Akad Med Białymst 50, 268-273, 2005
Ferrer A. et al., Ann Allergy Asthma Immunol 95 462-467, 2005
Pastorello E.A. et al., J Allergy Clin Immunol 104,1099-1106, 1999

Tato práce byla uskutečněna s podporou grantu MZe NAZV QH 92220

P 30**RYCHLÁ POMOC PŘI HODNOCENÍ A OPTIMALIZACI TEPELNÉHO OŠETŘENÍ POTRAVIN**Rajchl A.¹, Ševčík R.¹, Horsáková I.¹, Pozner J., Grégrová A.¹, Voldřich M.¹¹⁾ Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28, Praha 6

Optimalizace tepelných zákroků (pasterace/sterilace) představuje klíčový krok ve výrobním procesu celé řady potravinářských výrobků. Správně nastavený režim tepelného ošetření může vést k výrazným úsporám tepla resp. financí. V neposlední řadě lze zvýšit nutriční a senzorickou hodnotu potravin a zabránit nadměrnému vzniku nežádoucích látek. Jako pomoc při řešení otázek optimalizace tepelných zákroků byl vyvinut software CanMaster, který umožňuje uživatelsky přívětivou formou počítat celkový požadovaný inaktivační zákrok, a to s ohledem na typ potravin, pH a další parametry výrobku. Pomocí programu je možné vyhodnotit aplikovaný teplotní průběh a porovnat jej s požadovaným inaktivačním účinkem. Software je kompatibilní s různými formáty dat, dle použitých teplotních čidel. Součástí programu je ucelená nápověda, která uživatele provádí během používání tohoto programu a dovoluje optimalizovat tepelné zákroky i méně zkušeným uživatelům.

Obrázek č. 1.: Hlavní okno programu CanMaster

CanMaster

CanMaster Pomoc

Kategorie: Masné výrobky

Výrobek: Masové konzervy

Hodnota pH: 7

Referenční teplota: 121,1

Počet MO: 12

Doba před zpracováním: 5

Referenční mikroorganismus: Clostridium perfringens (spory)

z Value = 16,8 °C

D Value = 0,258 min

Potřebný inaktivační účinek F
4,386 minut

Skutečný inaktivační účinek F
48,00 minut

Pořadí	Čas [min]	Teplota [°C]
1	1	60,3
2	2	63,4
3	3	66,6
4	4	69,8
5	5	73,1
6	6	76,4
7	7	79,5
8	8	82,7
9	9	85,7
10	10	88,5
11	11	91,2
12	12	93,7
13	13	96,0
14	14	98,2
15	15	100,1
16	16	101,9
17	17	103,5
18	18	105,0
19	19	106,3
20	20	107,5
21	21	108,6
22	22	109,6
23	23	110,5
24	24	111,3
25	25	112,1
26	26	112,8

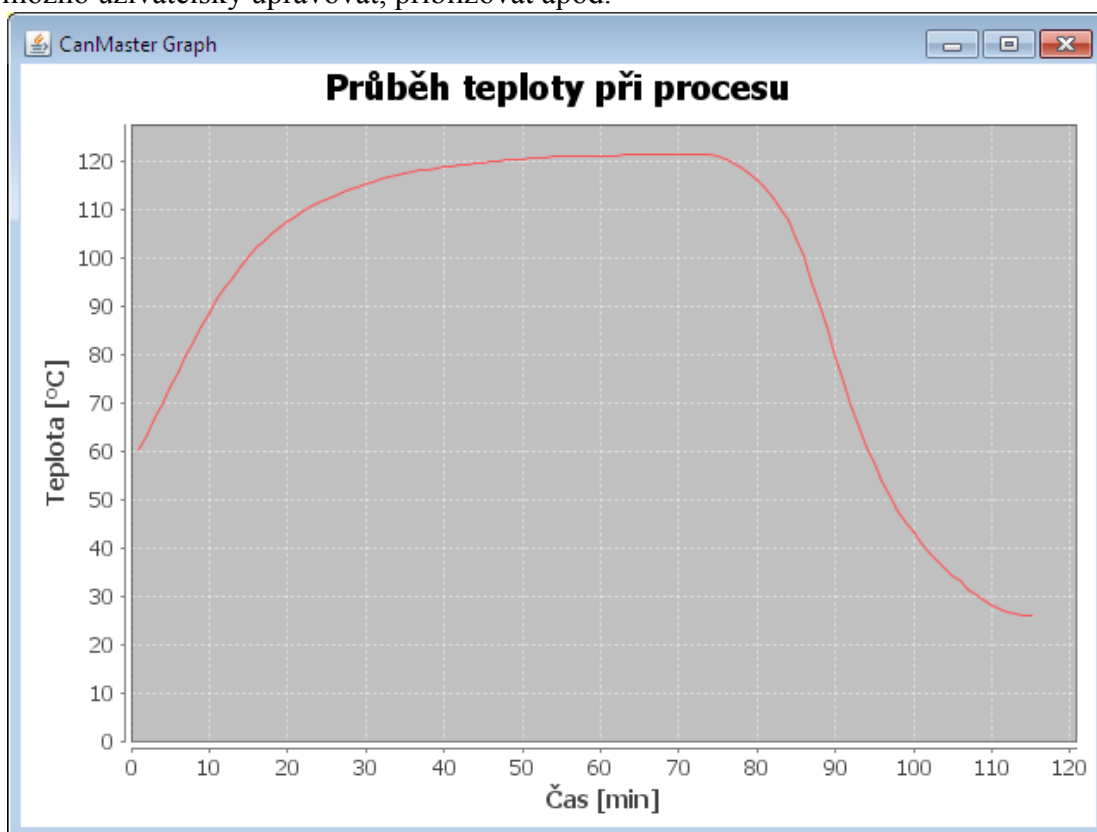
Spočítat !

Ukázat graf...

Uložit zprávu...

V programu je možno volit kategorii výrobků (masné, mléčné, nápoje apod.) a konkrétní výrobek, na základě zvoleného výrobku program uživateli navrhne možné mikroorganismy. Uživatel poté jednoduše zvolí příslušný mikroorganismu a program doplní parametr D (dekadická redukční doba) a z (teplotní citlivost). Dále je možné do programu zadat o kolik řádů se má snížit mikrobiální kontaminace, popř. jak dlouhá byla prodleva před samotným tepelným ošetřením. Všechny parametry je také možné měnit dle požadavku uživatele. Do tabulky v pravé části programu se data nahrají ze souboru, anebo nakopírují. Na případné řádky s nečíselnými hodnotami je uživatel programem upozorněn. Po stisknutí tlačítka spočítat program vypočte skutečný inaktivační účinek procesu. V rámci programu je možné vložená data převést do přehledného grafu, který může uživatel upravovat dle požadavku. Další možností programu CanMaster je tvorba reportů, kdy je možno generovat výsledky z výpočtů v podobě protokolů. Reporty je možno opět upravit dle požadavku uživatele.

Obrázek č. 2.: Ukázka jednoho z výstupů programu – grafické vyjádření průběhu teploty, graf je možno uživatelsky upravovat, přibližovat apod.



Ukázka Nápoředy programu CanMaster:

2) Výpočet požadovaného účinku $F_s = D_r \cdot (\log C_0 - \log C_1)$

V případě posuzování, zda má zřhřev požadovaný inaktivační účinek se vypočte F_s - potřebná doba zřhřevu v minutách při konstantní (referenční) teplotě t_r , která povede k požadovanému snížení počtu přítomné mikroflóry (požadovaný počet řádů krát doba pro inaktivaci jednoho řádu). Míra snížení se volí podle výsledků mikrobiologických rozborů, podle odhadu míry pomnožení před zřhřevem, podle stupně jistoty, jaký chce výrobce dosáhnout apod. V případě výpočtu na *Cl. botulinum* se vždy pracuje se snížením o 12 řádů.

3) Obvykle je k dispozici **záznam průběhu záhřevu**, který bohužel nemá charakter doby v minutách při konstantní teplotě. Výpočet zahrnuje přepočítání – numerickou integraci záhřevu s kolísající teplotou na dobu při konstantní teplotě. Odvození vztahu je nad rámec této příručky, pro výpočet inaktivačního účinku konkrétního záhřevu, tj. vyjádření inaktivačního účinku v minutách záhřevu při referenční teplotě t se použije vztah:

$$F = \int_{\tau_1}^{\tau_2} 10^{\frac{t-t_r}{z}} d\tau$$

Obrázek č. 3.: Ukázka návrhu reportu, report je možno uživatelsky upravit

Záznam termosterilačního procesu

Datum:	18. 5. 2011
Výrobek:	Masové konzervy
Šarže:	L18052011
Obsluha:	Josef Zavařil
Směna:	odpolední
Zařízení:	autokláv AV4
Další poznámka:	teplotní validace výrobku CENTÍK

Data pro výpočet požadovaného inaktivačního účinku:

Hodnota pH:	7
Referenční teplota:	121,1°C
Snížení o řád:	12
Doba před zpracováním:	5 hodin
Referenční mikroorganismus:	Clostridium perfringens (spory)
Požadovaný inaktivační účinek:	4,386 minut
Skutečný inaktivační účinek:	48,00 minut

ZÁVĚR

Program CanMaster má uživatelsky přívětivé rozhraní a umožňuje výrobcům potravin ovládat tepelné procesy. Program je kompatibilní s daty generovanými celou řadou teplotních čidel. Uživatel může nastavovat všechny parametry související s výpočty pasteračních/sterilačních režimů. Součástí programu je ucelená databáze mikroorganismů postihující většinu oblastí potravinářského průmyslu. Z programu je možné generovat přehledné reporty, které mohou sloužit k archivování provedených tepelných zákroků a jsou v souladu se systémy řízení jakosti a zdravotní nezávadnosti potravin. Díky automatizaci výpočtu jsou vyloučeny hrubé chyby způsobené chybou při „ručním výpočtu“. Program dále usnadňuje optimalizace tepelných zákroků a je vhodný i pro méně zkušené výrobce potravin.

PODĚKOVÁNÍ: Výzkum vznikl z podpory projektů MŠMT 6046137305

P 31**GENERACE DAT PRO ČESKOU DATABÁZI SLOŽENÍ POTRAVIN – NUTRIČNÍ HODNOCENÍ TRADIČNÍCH ČESKÝCH OMÁČEK**

Holasová M.¹, Fiedlerová V.¹, Mašková E.¹, Rysová J.¹, Winterová R.¹, Gabrovská D.¹, Macháčková M.²

¹⁾ Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i., Radiová 7, 102 31 Praha 10

²⁾ Ústav zemědělské ekonomiky a informací, Mánesova 75, 120 56 Praha 2

Abstrakt

Pro kompilaci on-line České databáze složení potravin byla generována analytická data pro tradiční české omáčky. V rámci projektu byly připraveny a analyzovány následující pokrmy: omáčka rajčatová, houbová, koprová, křenová, svíčková, hovězí maso zadní vařené a houskový knedlík kynutý. Analýzy vzorků byly zaměřeny na tyto faktory: voda, popel, bílkoviny, aminokyseliny, tuk, cholesterol, mastné kyseliny, sacharidy, vláknina potravy, vitaminy C, B₁, B₂, B₆, niacin, kyselina pantothenová, vitamin E, vitamin A a β -karoten, vápník, železo, draslík, hořčík, sodík, fosfor, zinek. Obsah sumy nasycených, mononenasycených, polynenasycených a trans-mastných kyselin, obsah celkových a využitelných sacharidů a energie byl vypočten podle interních algoritmů databáze. Získaná data byla zpracována a zdokumentována dle standardů EuroFIR. S použitím dat přispívajících složek byla generována i data pro pokrmy obsahující hovězí maso vařené, houskový knedlík kynutý a omáčku. Nutriční údaje byly vloženy do české databáze složení potravin a jsou dostupné na adrese <http://www.czfcdb.cz/>.

Úvod

V rámci Centra pro národní databázi složení potravin (společný projekt ÚZEI a VÚPP) je za podpory MZe od roku 2007 budována nová Česká databáze složení potravin. Východiskem je spolupráce v rámci EC projektu EuroFIR, jehož cílem je sjednocení metodik tvorby evropských národních databází složení potravin. Pro účely databáze složení potravin ČR jsou použity tři hlavní zdroje dat – data z literatury, data získaná analyticky a data získaná výpočtem na základě přispívajících složek. Součástí databáze je též skupina vybraných českých tradičních potravin

Tradiční potraviny jsou definovány jako potraviny se specifickým charakterem, který je jasně odlišuje od podobných produktů stejné kategorie ve smyslu použití „tradičních surovin“ (suroviny nebo primární produkty), „tradičního složení“ nebo „tradičního způsobu produkce nebo zpracování“ (1). Charakterizuje je unikátní identifikovatelné složení a způsob přípravy, které byly vyvinuty před II. světovou válkou a přechází generacemi ústním podáním nebo jinými prostředky. Časový úsek „před II. světovou válkou“ představuje období před zavedením masové výroby potravin, tj. před aplikací technologických inovací, které podstatně změnily proces produkce potravin. Tradiční potraviny vyjadřují kulturu, historii a životní styl a navzdory globalizaci přispívají k rozdílům ve stravování v jednotlivých zemích. Obvykle bývají chutné a proto zajímavé pro potravinářský průmysl i veřejné stravování.

Základem české kuchyně je lidová kuchyně a suroviny, které se pěstovaly lokálně. Fenomémem české kuchyně jsou omáčky, které jsou i jedním z poznávacích znaků české kuchyně. Pečené, dušené nebo vařené maso přelité omáčkou zpravidla smetanovou nebo omáčkou zjemněnou máslem či mlékem, která je doplněna základní chutí, je typickým hlavním chodem. Omáčka je v české kuchyni součástí jídla. Naprosto jedinečnou přílohou k omáčkám jsou houskové knedlíky, které nejen díky receptuře, ale i použití mouk se speciální technologií mletí, jsou specifické.

V rámci projektu byly připraveny a analyzovány následující pokrmy: omáčka rajčatová, houbová, koprová, křenová, svíčková hovězí pečeně, hovězí maso zadní a houskový knedlík kynutý. S použitím přispívajících složek byla vypočtena data pro pokrmy zahrnující omáčku, maso a knedlík současně.

Materiál a metody

Suroviny byly nakoupeny v běžné maloobchodní síti. Příprava byla provedena v laboratoři s použitím běžného kuchyňského vybavení. Vzorek byl získán homogenizací produktu, tj. omáček rajčatové, koprové, křenové, houbové, vařeného hovězího masa, houskového knedlíku. V případě svíčkové hovězí pečeně obsahoval homogenát omáčku i s hovězím masem.

Příprava pokrmů byla prováděna dle publikace Jaroslav Runštuk a kol.: *Receptury teplých pokrmů* (2). Byla zaznamenána dokumentace postupu přípravy pokrmu, a to původ surovin, příprava surovin před vařením, měření odpadu při přípravě surovin, množství surovin v předpisu, množství surovin ve formě jak jsou přidány, metody přípravy (kritické údaje – čas, teplota atd.), hmotnost finálního produktu (výtěžek), fotografická dokumentace přípravy pokrmu. V homogenátu pokrmu byly analyticky hodnoceny následující nutrienty: sušina, popel, bílkoviny, aminokyseliny, tuk, cholesterol, mastné kyseliny, vláknina potravy, vitaminy C, B₁, B₂, B₆, niacin, kyselina pantothenová, vitamin E, vitamin A a beta-karoten, vápník, železo, draslík, hořčík, sodík, fosfor, zinek. Obsah sumy nasycených, mononenasycených, polynenasycených a trans-mastných kyselin, obsah celkových a využitelných sacharidů, vitaminu A, vitaminu E a energie byl vypočten podle interních algoritmů databáze (3). Pro výpočet obsahu mastných kyselin byl použit algoritmus: obsah mastných kyselin (g/100g) = obsah tuku (g/100g) x f, kde f je faktor odpovídající hlavnímu zdroji tuku dle publikace Greenfield and Southgate (4). Obsah bílkovin byl vypočten s použitím algoritmu: obsah bílkovin (g/100g) = obsah dusíku (g/100g) x F, kde F je faktor pro hlavní zdroj bílkovin (4). Získaná data byla zpracována a zdokumentována dle standardů a tezaurů EuroFIR (5). S použitím hodnot přispívajících složek byla generována výpočtem i data pro pokrmy obsahující hovězí maso vařené, houskový knedlík kynutý a omáčku. Použité receptury (2) uvádí i velikosti porcí. Tyto údaje byly použity při výpočtu obsahů jednotlivých nutrientů.

Výsledky

V tabulce 1 je uveden seznam analyzovaných pokrmů a seznam pokrmů hodnocených výpočtem z přispívajících složek. Na příkladu vzorku svíčková hovězí pečeně je prezentován způsob přípravy a dokumentace údajů. Tabulka 2 sumarizuje základní údaje způsobu přípravy pokrmu. V Tabulce 3 jsou zaznamenány receptura, způsob přípravy surovin a hmotnostní ztráty při přípravě surovin a dále hmotnost výsledného pokrmu se specifikací jedlého podílu. Na obr. 1 je uvedena fotodokumentace základních kroků přípravy pokrmu. Tabulka 4 demonstruje způsob a dokumentaci získaných dat. Zápis, provedený dle tezaurů EuroFIR (5) umožňuje identifikovat potravinu, nutrient, použité jednotky obsahu, datum kdy byla hodnota získána a vložena do databáze, typ hodnoty (např. průměr, medián, logická nula, méně než), způsob získání hodnoty (např. potravinové tabulky, značení potraviny, nezávislá laboratoř, průmyslová laboratoř), citaci dat, typ metody (např. analytické, odhad, na základě receptury), princip analytické či výpočetní metody použité při získání hodnoty, dále uvádí poznámku (např. použité přepočítávací faktory) a jméno kompilátora.

Tab.1: Analyzované pokrmy a pokrmy hodnocené výpočtem z přispívajících složek.

Analyzované pokrmy	Pokrmy z přispívajících složek*
Rajčatová omáčka	Rajčatová omáčka, hovězí maso zadní vařené, houskový knedlík kynutý
Houbová omáčka	Houbová omáčka, hovězí maso zadní vařené, houskový knedlík kynutý
Křenová omáčka	Křenová omáčka, hovězí maso zadní vařené, houskový knedlík kynutý
Koprová omáčka	Koprová omáčka, hovězí maso zadní vařené, houskový knedlík kynutý
Svíčková hovězí pečeně	Svíčková hovězí pečeně, houskový knedlík kynutý
Maso hovězí vařené	
Houskový knedlík kynutý	

*velikost porcí převzata z publikace Runštuk (2)

Tabulka 2: Základní podmínky přípravy svíčkové hovězí pečeně

Název pokrmu	SVÍČKOVÁ NA SMETANĚ
Původ receptury	J.Runštuk (2), receptura 11107/A, str. 89
Charakter ingrediencí	čerstvé
Kulinární metoda	dušení
Nádobí	sklo, smalt
Teplota vaření (°C)	100
Doba vaření (min)	190
Počet porcí	5
Počet opakování přípravy	1
Počet analyzovaných vzorků	1 (2 paralelní stanovení)
Výtěžnost (%)	69

Obr.1: Fotodokumentace přípravy svíčkové hovězí pečeně



Tabulka 3: Receptura a hmotnostní bilance svíčkové hovězí pečeně

Seznam surovin	Poznámka	Hmotnost skutečná (g)		
		hrubá	po přípravě	hotového pokrmu
Hovězí maso zadní k u.		1045	1045	
Slanina		51	51	
Sůl		17	17	
Tuk	máslo(obsah tuku 82%)	100	100	
Zelenina kořenová	celer, petržel, mrkev (1:1:1), očištění	250	200	
Cibule	oloupání	100	85	
Voda pitná		700	700	
Pepř celý		1	1	
Nové koření		1	1	
Bobkový list a tymián		1	1	
Citron	omytí, krájení na plátky	45	45	
Ocet		9	9	
Cukr		3	3	
Máslo	obsah tuku 82%	50	50	
Mouka hladká		89	89	
Smetana	obsah tuku 12%	500	500	
Hmotnost surovin hrubá (g)		2962		
Hmotnost surovin po očištění (g)			2897	
Hmotnost po uvaření (g)				2030
Jedlý podíl (%)				100

Tabulka 4: Příklad dokumentace získaných dat pro svíčkovou hovězí pečeň

Kód potraviny	Kód nutrientu*	Nutrient	Potravina	Jednotka*	Jednotka matrice*	Vybraná hodnota	Typ hodnoty*	Způsob získání hodnoty*
0156	50100	Voda celková	Omáčka svíčková, smetanová, domácí	g	W	69.9	AV	O
0156	51000	Bílkoviny celkové	Omáčka svíčková, smetanová, domácí	g	W	11.8	BE	S
0156	51005	Dusík celkový	Omáčka svíčková, smetanová, domácí	g	W	1.8	AV	O
0156	51201	Glycin	Omáčka svíčková, smetanová, domácí	mg	W	801	AV	O
0156	51202	Alanin	Omáčka svíčková, smetanová, domácí	mg	W	871	AV	O

Pokračování Tabulky 4

Identifikace zdroje dat*	Rok zveřejnění dat	Datum vložení dat	Typ metody*	Identifikace metody*	poznámka	Jméno kompilátora
00040	2009	2009-10-05	A	MI0141		hol
00012	2009	2009-10-05	T	MI0123	6.38	hol
00040	2009	2009-10-05	A	MI1039		hol
00040	2009	2009-10-05	A	MI1137		hol
00040	2009	2009-10-05	A	MI1137		hol

* identifikační kódy dle tezaurů EuroFIR (5)

Závěr

Byly připraveny a analyzovány následující pokrmy: omáčka rajčatová, houbová, koprová, křenová, svíčková hovězí pečeň, hovězí maso zadní a houskový knedlík kynutý. S použitím přispívajících složek byla získána data pro pokrmy zahrnující omáčku, maso a knedlík současně. Data byla dokumentována podle standardů EuroFIR a vložena do databáze. Česká databáze složení potravin je dostupná na adrese <http://www.czfcdb.cz>

Literatura

- (1) Costa H.S., Vasilopoulou E., Trichopoulou A., Finglas P. (2010): New nutritional data on traditional foods for European food composition databases. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64, Suppl 3, S73-81
- (2) Jaroslav Runštuk a kol. 2007: Receptury teplých pokrmů. Radek Runštuk – R plus, Hradec Králové, 2007, ISBN 987-80-902492-7-1, str. 85, 89, 405, 406, 408, 409, 501
- (3) <http://www.czfcdb.cz> (10.7.2012)
- (4) Greenfield H., Southgate D.D.T. : Food composition data, production, management and use. FAO, Rome 2003, ISBN 92 5 104949 1
- (5) http://www.eurofir.org/eurofir_aisbl/products/eurofir_thesauri (10.7.2012)

Projekt byl financován z prostředků MZe ČR.

P 32**REAKCE REDUKUJÍCÍCH LÁTEK S KARBONYLOVÝMI SLOUČENINAMI
V MAILLARDOVĚ REAKCI**

Konečný M., Šubrtová M., Velíšek J., Cejpek K.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

SOUHRN

Maillardova reakce (MR), tj. transformace redukujících sacharidů v přítomnosti aminosloučenin, patří mezi nejvýznamnější a zároveň nejrozšířenější chemické procesy probíhající během skladování a zpracování potravin. Díky svému významu nejen v potravinářství, ale také například v oblasti medicíny je MR stále intenzivně a detailně studována. V současnosti se výzkum zaměřuje na antioxidační vlastnosti (mezi)produktů mj. v souvislosti s možným použitím těchto látek jako přirozených antioxidantů potravin. Mezi takové látky patří tzv. reduktory (norfuraneol a 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on), tj. sloučeniny, které mají endiolovou skupinu v sousedství karbonylové skupiny, resp. reaktivní methylenovou skupinu. Tento příspěvek je zaměřen na následné reakce těchto látek v modelových reakčních směsích s karbaldehydy aj. reaktivními meziproducty MR. Byly sledovány vznikající produkty, které si uchovávají redukční sílu. Dále byly sledovány změny v binárních modelových reakčních systémech fenolových kyselin (deriváty skořicové kyseliny) s reduktory, α -dikarbonylovými a α -hydroxykarbonylovými meziproducty MR a oxidace lipidů, a to nejen s ohledem na přenos redukční aktivity, ale i na adiční produkty, které mohou souviset se schopností fenolových látek snižovat úroveň karbonylového stresu v živých systémech. Pro stanovení redukční kapacity byla použita metoda HPLC s amperometrickou detekcí ($E_a = +0,8$ V).

ÚVOD

V průběhu skladování a zpracování potravin dochází k chemickým procesům, které vedou ke vzniku mnoha různorodých látek. Tyto látky na straně jedné mohou snižovat kvalitu potravin (snížení nutriční hodnoty potravin v důsledku reakce karbonylových sloučenin s lysinem; vznik různých toxických produktů – především mutagenních a karcinogenních látek), na straně druhé mohou kvalitu potravin zvyšovat (antioxidační vlastnosti reakčních produktů). Právě na sledování vzniku produktů s antioxidačními vlastnostmi je zaměřen tento příspěvek. Mezi takové látky patří i některé produkty Maillardovy reakce (MR). Antioxidační účinky a relativní zastoupení (mezi)produktů Maillardovy reakce mohou zásadním způsobem ovlivňovat také fenolové sloučeniny. Jejich přítomnost může významně potlačovat vznik látek zodpovědných např. za tvorbu aroma potravin či zmírňovat negativní účinky reaktivních karbonylových meziproductů Maillardovy reakce na organismus (redukce karbonylového stresu). O transformačních reakcích a možném přenosu redukční kapacity do následných produktů uvedených aktivních látek je známo relativně málo.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Modelové systémy: Testovanými reakčními směsmi byly vodné binární ekvimolární 0,1 M roztoky elektrochemicky aktivního norfuraneolu (NOR) nebo 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-onu (dihydrohydroxymaltol; DDMP), a reaktivní karbonylové intermediáty – furan-2-karbaldehyd (2-FF), 5-hydroxymethylfuran-2-karbaldehyd (HMF), pyrrol-2-karbaldehyd (2-PC), glykolaldehyd (GLY), glycerinaldehyd (GRY). Byly zahřívány na teplotu 70 nebo 95 °C v uzavřených vialkách 0–4 hodiny. Další testované reakční směsi tvořil norfuraneol a některý derivát skořicové kyseliny [ferulová (FA), *p*-kumarová (COA), kávová (CA), chlorogenová (CHA) and sinapová (SA) kyselina] (**Obr. 1**); derivát skořicové kyseliny (HCA) a reaktivní karbonylový intermediát – 2-FF, GLY, methylglyoxal (MGO), sodná sůl malonaldehydu (MANa). Tyto systémy byly vodné binární ekvimolární 0,01 M (pH = 7; 10) a 0,001 M (pH = 1,5–4) roztoky zahřívány na teplotu 95 °C v uzavřených vialkách v časovém rozpětí 0–24 h. Reakční směsi byly zchlazeny a zfiltrány přes filtr o velikosti porů 0,45 μ m. Před HPLC analýzou byly směsi desetkrát zředěny mobilní fází.

Syntézy: Syntéza dihydrohydroxymaltolu byla provedena modifikovaným způsobem dle Kima and Baltes [1], příprava 2-[(2-furyl)methyliden]-4-hydroxy-5-methyl-2*H*-furan-3-onu byla provedena modifikovaným způsobem dle Ledla and Severina [2], sodná sůl malonaldehydu byla připravena modifikovaným způsobem dle Trivella *et al.* [3].

HPLC analýza: Analýzy modelových systémů byly provedeny HPLC metodou na kolonách Atlantis C18, 150 x 3,9 mm, 3 μ m, s předkolonkou Atlantis C18, 3 μ m nebo Atlantis T3, 150 x 3,0 mm, 3 μ m a 150 x 2,1 mm, 3 μ m, s předkolonkou Atlantis C18, 3 μ m gradientovou elucí (pH 6,5/MeCN/5 mM NaCl, s detektorem diodového pole (PDA 996) & elektrochemickým detektorem (ELD 2465, E_a = +0,8 V, oba Waters) nebo hmotnostním detektorem (Q-TOF-ESI, APCI, Micromass, 10 mM HCOONH₄/MeCN).

GC/MS analýza: Isolované kondenzační produkty byly analyzovány pomocí GC-MS (EI) metodou na koloně DB-1HT (15 m x 0,25 mm x 0,1 μ m, Agilent).

NMR analýza: ¹H- a ¹³C- NMR spektra syntetizovaných nebo izolovaných sloučenin byly zaznamenány na Bruker Avance DRX 500 spektrometru v CDCl₃ a DMSO-d₆. Heteronukleární dvou-dimensionální ¹H – ¹³C korelace v HMQC a HMBC experimentech byly použity pro potvrzení identity kondenzačních produktů.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Ze souboru testovaných reduktonových struktur a struktur reduktonům podobným byly schopny pouze norfuraneol a 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4*H*-pyran-4-on dosáhnout významných aktivních produktů po reakci s různými významnými meziprodukty Maillardovy reakce. Redukující sloučeniny s aktivní methylenovou skupinou jsou transformovány na redukující produkty nejintenzivněji při reakci s cyklickými sloučeninami mající reaktivní formylovou skupinu, jako například deriváty furan-2-karbaldehydu, nebo α -hydroxykarbonylové produkty fragmentace sacharidů, jako jsou glykolaldehyd nebo glyceraldehyd.

Primární elektrochemicky aktivní adukty (optické isomery) jsou dehydratovány a vznikají kondenzační produkty (*trans/cis*-isomery), které jsou následně částečně transformovány na další elektrochemicky aktivní produkty. Několik kondenzačních produktů bylo izolováno a identifikováno jako stereoisomery 2-[(2-furyl)methyliden]-4-hydroxy-5-methyl-2*H*-furan-3-onu vznikajícího z norfuraneolu a furan-2-karbaldehydu, 4-hydroxy-2-[2-(5-hydroxymethylfuryl)methyliden]-5-methyl-2*H*-furan-3-onu vznikajícího z norfuraneolu a HMF, a 4-hydroxy-5-methyl-2-[(2-pyrrolyl)methyliden]-2*H*-furan-3-onu vznikajícího z norfuraneolu a 2-PC. V případě reakční směsi norfuraneolu s glykolaldehydem byly identifikovány adiční produkty - isomery dehydrodimeru adičního produktu norfuraneolu s glykolaldehydem s molekulovou hmotností 346 g/mol.

V reakčních směsích HCA s norfuraneolem docházelo ve vodném prostředí ke vzniku tří typů produktů. Prvním jsou transformační produkty HCA, jejichž identita byla ověřena záhřevem samotných kyselin za stejných podmínek. Do dalších skupin pak patří látky, které se tvořily pouze v daných binárních směsích. Dělí se na základě podílu norfuraneolu na jejich vzniku. Druhou skupinou tedy představují produkty, kde se na jejich tvorbě podílel kromě dané HCA i norfuraneol. Jedná se např. o adiční produkty norfuraneolu s HCA. Do třetí skupiny se pak řadí produkty, které se tvořily pouze v důsledku přítomnosti norfuraneolu v reakčním systému HCA, aniž by ovšem karbonylová složka byla součástí struktury těchto produktů. Norfuraneol mohl např. katalyzovat jejich reakce, redukovat je či poskytnout HCA některou ze svých funkčních skupin. Obě tyto posledně uvedené skupiny látek byly souhrnně nazývány jako produkty reakce HCA s norfuraneolem, protože metoda HPLC/PDA/ECD neumožňovala jejich identifikaci. Některé z nich se podařilo charakterizovat metodou LC/MS.

V reakční směsi kávové kyseliny s norfuraneolem byly nalezeny isomery dimerizovaného aduktu vinylkatecholu s norfuraneolem s molekulovou hmotností 500 g/mol. V reakční směsi ferulové kyseliny s norfuraneolem byl zjištěn produkt s molekulovou hmotností 526 g/mol, který byl odpovídá dehydrodimeru aduktu vinylguajakolu s norfuraneolem. V reakční směsi

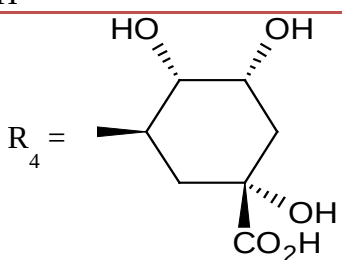
chlorogenové kyseliny s norfuraneolem byly identifikovány stejné látky jako v případě reakční směsi kávové kyseliny s norfuraneolem. Jedná se o isomery aduktu vinylkatecholu s norfuraneolem.

Reakcí kávové kyseliny s glykolaldehydem vznikl produkt s molekulovou hmotností 544 g/mol. Uvedený produkt byl pozorován i ve směsi kávové kyseliny s norfuraneolem, kávové kyseliny s methylglyoxalem a ferulové kyseliny s furan-2-karbaldehydem. V reakční směsi ferulové kyseliny s glykolaldehydem vznikl produkt shodný s látkami vznikajícími v reakčních směsích ferulové kyseliny s karbonyly (furan-2-karbaldehyd, methylglyoxal). Jedná se o dimer vinylguaajakolu, jehož molekulová hmotnost činí 300 g/mol.

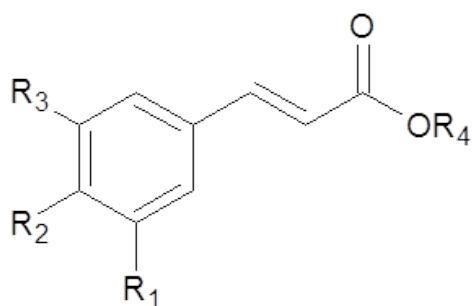
V reakční směsi kávové kyseliny s furan-2-karbaldehydem byl na základě hmotnostního spektra identifikován vznikající produkt - dehydrodimer vinylkatecholu s furan-2-karbaldehydem, který má molekulovou hmotnost 366 g/mol. Dále byla potvrzena shoda produktu s molekulovou hmotností 544 g/mol tvořící se také v reakční směsi kávové kyseliny s glykolaldehydem.

V reakční směsi kávové kyseliny s methylglyoxalem byl na základě hmotnostního spektra rozpoznán adiční produkt kávové kyseliny s dvěma molekulami methylglyoxalu (324 g/mol). Vznik tohoto produktu potvrdil schopnost kávové kyseliny vylučovat molekuly methylglyoxalu, který je znám jako původce karbonylového stresu. Dále byla potvrzena shoda látky s molekulovou hmotností 544 g/mol s produkty reakce kávové kyseliny s furan-2-karbaldehydem a kávové kyseliny s glykolaldehydem. Druhý identifikovaný produkt (406 g/mol) dle hmotnostního spektra odpovídá dehydrotrimeru vinylkatecholu.

Název kyseliny	Funkční skupina
Ferulová kyselina	$R_1 = -OCH_3$, $R_2 = -OH$, $R_4 = H$
Kávová kyselina	R_1 , $R_2 = -OH$, $R_4 = H$
Sinapová kyselina	R_1 , $R_3 = -OCH_3$, $R_2 = -OH$, $R_4 = H$
p-Kumarová kyselina	$R_2 = -OH$, $R_4 = H$
Chlorogenová kyselina	R_2 , $R_3 = -OH$



$R_4 =$



Obrázek 1 Struktury derivátů hydroxyskořicových kyselin (HCA).

PODĚKOVÁNÍ

Tento projekt vznikl za podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (Projekt MSM 6046137305) a dále byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.21/2012).

LITERATURA

- [1] Kim M. O. and Baltes W. 1996. On the Role of 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4(H)-pyran-4-one in the Maillard Reaction. *J. Agric. Food Chem.* 44: 282-289.
- [2] Ledl F., Severin Th., Lebensm Z. 1978. *Unters. Forsch.* 167: 410-413.
- [3] Trivella A., Coussan S., Chiavassa T.: Malonaldehyde synthesis. *Synthetic Communications.* 38, 3285-3290 (2008).

Sborník příspěvků

XLII. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin

© Cejpek, K.; Špicner, J.

Praha, 2012

ISBN 978-80-7080-839-9

ISBN 978-80-86909-05-9

ISSN 1802-1433