

SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

XLIII. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin

27. – 29. 5. 2013

Skalský Dvůr



Karel Cejpek a Jindřich Špicner
editoři

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

Praha 2013

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

© Karel Cejpek, Jindřich Špicner, 2013

ISBN 978-80-86909-07-3 (Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.)
ISBN 978-80-7080-866-5 (Vysoká škola chemicko-technologická v Praze)
ISSN 1802-1433 (Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.)

Obsah

R - referáty

P - postery

R 1	4	Válková V., Pokora J.: Kontrola kvality potravin prováděná SZPI, její výsledky a význam webu potravin na pranýři pro spotřebitele
R 2	8	Čížková H., Voldřich M.: Vývoj kvality výrobků z ovoce a zeleniny
R 3	12	Hrbek V., Vodrážka P., Cajka T., Ovesná J., Hajšlová J.: Český česnek: charakterizace, kvalita a autenticita česneku
R 4	16	Ševčík R.: Kvalita masa a masných výrobků
R 5	20	Kopáček J.: Vývoj kvality mléka a mlékárenských výrobků z pohledu výživy
R 6	21	Příhoda J., Sluková M., Krejčířová L.: Aktuální trendy v pekárenské výrobě
R 7	25	Štiková O.: Vývoj spotřeby, příjmu živin a poptávky po potravinách
R 8	26	Dostálová J., Doležal M.: Vývoj kvality tuků v potravinách z pohledu výživy
R 9	30	Hoos P.: How to confirm your mayonnaise is a real mayonnaise?
R 10	35	Doležal M., Dostálová J., Švehlová A., Voldřichová J.: Složení mastných kyselin tuku v müsli tyčinkách a jeho nutriční hodnocení
R 11	40	Saláková A., Pavlík Z., Kameník J.: Náhrady tuků v technologii trvanlivých masných výrobků
R 12	44	Ševčík R., Pohůnek V., Pivoňka J., Kvasnička, F., Rajchl A., Voldřich M.: Analytické parametry hodnocení jakosti masných výrobků
R 13	48	Koplík R., Revenco D., Mestek O.: Změny chemického stavu fosforu a stopových prvků v potravinách vyvolané trávením
R 14	55	Dostálek P.: Význam piva ve výživě
R 15	58	Cejpek K., Bícová M., Zemanová K., Konečný M.: Antioxidační kapacita nerozpustných složek nápojů
R 16	62	Horsáková I., Voldřich M., Čížková H., Duchová I., Reitschmied T.: Mikrobiální kontaminace nealkoholických nápojů
R 17	66	Exner M.: SFC - nový trend kapalinové chromatografie
R 18	67	Kadlec I., Fleglová I., Dvořáková P.: Infračervená spektroskopie a její využití v potravinářství
R 19	72	Bervida F.: Chemická a fyzikální kontrola kvality – firemní prezentace DONAULAB
R 20	73	Macháčková M., Holasová M., Mašková E.: Databáze složení potravin české republiky
R 22	77	Hrušková M., Švec I., Hofmanová T.: Pšenično – ječné těstoviny s přísadami konopných produktů
R 23	81	Švec I., Hrušková M.: Charakteristiky kompozitní mouky s ječmenem a konopím
R 24	85	Janská V., Piknová E., Kuchta T.: Využitie interného štandardu pri kvantifikácii alergenů v potravinách pomocí REAL-TIME PCR
R 25	88	Vepřiková Z., Slavíková P., Džuman Z., Fenclová M., Zachariášová M., Hajšlová J.: Mykotoxiny v obilovinách a rychlotesty pro stanovení deoxynivalenolu
R 26	92	Krtková V., Schulzová V., Novotná H., Hajšlová J.: Monitoring fytoestrogenů v travních porostech v závislosti na ošetření a skladování
R 27	96	Landfeld A., Halama R., Novotná P., Kýhos K., Strohalm J., Winterová R., Eichlerová E., Erban V., Kadlec P., Dostálová J., Houška M.: Optimalizace způsobů klíčení soji z hlediska mikrobiální kvality, procenta klíčivosti a obsahu galaktosidů
R 28	100	Grégrová A., Čížková H., Neradová E., Mazáč J., Voldřich M.: Průkaz přísadky syntetické kyseliny octové do nálevu konzervované zeleniny: stanovení izotopových poměrů s využitím 2H-NMR a IRMS spektrometrie
R 29	104	Pustelníková L., Štětina J.: Emulgační vlastnosti podmáslí

R 30	108	Skalka V., Čurda L., Vašíčková M.: HPLC as a fast method for the quality control of colostrum
R 31	112	Panovská Z., Ilko V., Míková K.: Senzorické hodnocení kávy
R 32	117	Čížková H., Grégrová A., Kružík V., Voldřich M.: Možnosti průkazu aromatizace medu
P 1	121	Hofmanová T., Hrušková M., Švec I. : Netradiční plodiny pro fortifikaci cereálních výrobků
P 2	125	Jirsa O., Vaculová K., Martinek P., Stehno Z., Laknerová I.: Hodnocení reologických vlastností kompozitních mouk z netradičních genotypů pšenice a ječmene
P 3	126	Duchová I., Grégrová A., Čížková H., Voldřich M.: Faktory ovlivňující změny citrusového aroma nealkoholických nápojů
P 4	130	Duchová I., Horsáková I., Čížková H., Slavíková B., Voldřich M.: Octové bakterie jako příčina kažení nealkoholických nápojů
P 5	135	Horsáková I., Reitschmied T., Voldřich M., Čížková H.: Sedimenty a zákaly v alkoholických nápojích
P 6	138	Ženišová K., Kuchta T.: Identifikácia kvasiniek vo víne pomocou infračervenej spektroskopie s Fourierovou transformáciou (FTIR)
P 7	141	Frömmel J., Soural M., Kopečná M., Kopečný D., Tarkowski P., Vianello F., Šebela M.: Aminoaldehyddehydrogenasa 1 z rajčete a její možné využití k detekci aldehydů v lihovinách
P 8	145	Grégrová A., Čížková H., Vrácovská E., Rajchl A., Voldřich M.: Kvalitativní znaky česneku: zhodnocení možností autentizace českého česneku
P 9	150	Pohůnek V., Ševčík R., Marek M., Škorpilová T., Voldřich M.: Adsorpce ethylenu pomocí chemicky upravených přírodních kaolínů
P 10	153	Rajchl A., Kovařík F.: Kvalita minimálně opracovaného ovoce
P 11	157	Kovařík F., Vyšínová L., Rajchl A.: Hodnocení enzymového hnědnutí minimálně opracovaného ovoce
P 12	161	Ilko V., Doležal M., Velíšek J.: Degradace glycidyl palmitátu v modelových systémech
P 13	165	Chvalová D., Špička J.: Jednoduchý extrakční postup pro stanovení spektra mastných kyselin ve svalovém tuku
P 14	169	Rohlík B., Škorpilová T., Pipek P., Fantová M., Nohejlová L., Chodová D.: Vřesová ovce – nový zdroj masa
P 15	173	Škorpilová T., Šimoniová A., Rohlík B-A., Pipek P.: Odlišení čerstvého kuřecího masa od rozmraženého pomocí akonitázy
P 16	177	Pohůnek V., Ševčík R., Sliva P., Domingues J., Voldřich M.: Vliv přídavku přírodních antioxidantů na stabilitu barvy játrových paštik
P 17	180	Ševčík R., Pohůnek V., Rajchl A., Čížková H., Pivoňka J., Voldřich M.: Příčiny a možné způsoby prevence tvorby bílých skvrn na salámech a klobásách
P 18	183	Ševčík R., Pohůnek V., Čížková H., Rajchl A., Votavová L., Voldřich M.: Posouzení nestandardních senzorických vlastností u masných výrobků
P 19	186	Pavlík Z., Saláková A., Kameník J.: Trvanlivé masné výrobky se sníženým obsahem tuku
P 20	190	Šimoniová A., Škorpilová T., Šišová V., Rohlík B-A., Pipek, P.: Masové konzervy bez dusitanů

R 1**KONTROLA KVALITY POTRAVIN PROVÁDĚNÁ SZPI, JEJÍ VÝSLEDKY A VÝZNAM WEBU POTRAVIN NA PRANÝŘI PRO SPOTŘEBITELE**

Válková V., Pokora J.

Státní zemědělská a potravinářská inspekce, Ústřední inspektorát, Květná 15, 603 00 Brno

V roce 2012 provedla Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI) celkem 35 136 vstupů do provozoven potravinářských podniků, celních skladů a internetových obchodů, v rámci kterých zjistila 4095 nevyhovujících šarží potravin (představuje 20 % z celkového počtu odebraných vzorků).

V roce 2012 přijala SZPI 6098 podnětů ke kontrole, což představuje téměř 100% nárůst oproti roku 2011. Jednou z příčin tohoto nárůstu bylo i spuštění webu Potraviny na pranýři. Web byl spuštěn 10.7.2012 v rámci tiskové konference, které se mimo jiných účastníci a ministr zemědělství Ing. Petr Bendl a ústřední ředitel SZPI Ing. Jakub Šebesta.

Na webu jsou zveřejňovány nevyhovující vzorky potravin zjištěných v rámci úředních kontrol prováděných SZPI. Potraviny jsou rozděleny do tří kategorií podle míry závažnosti nevyhovění právním předpisům:

- Nejakostní potraviny - nejsou v souladu s požadavky právních předpisů na jakost nebo neodpovídají jakosti deklarované výrobcem, nicméně zjištěné vady charakteru potravin výrazně nemění.
- Falšované potraviny – potraviny, u kterých se zjištěná vada týká samé podstaty, charakteru nebo původu potravin, včetně zásadních porušení požadavků právních předpisů na jakost potravin.
- Nebezpečné potraviny – potraviny, u kterých bylo zjištěno porušení povinnosti dodržet požadavky na bezpečnost potravin stanovené právním předpisem.

Cílem webu je zlepšit pozici spotřebitele na trhu potravin a ochrana zájmů spotřebitele podle článku 8 nařízení ES č.178/2002.

- Čl. 8 nařízení ES č. 178/2002 *Ochrana zájmů spotřebitele*

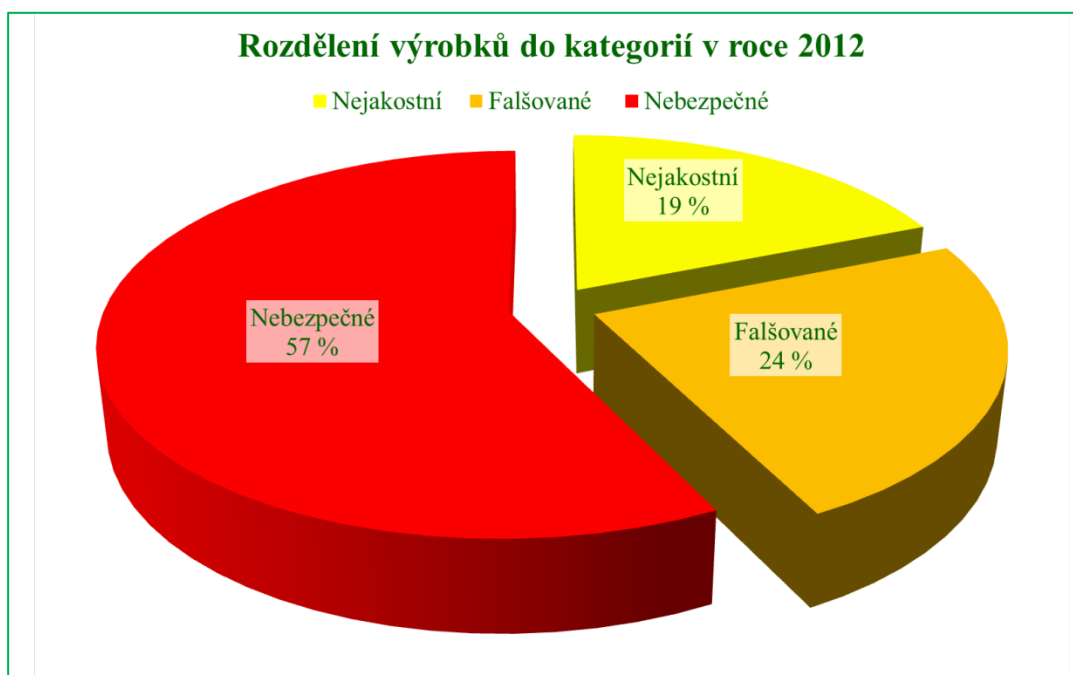
Cílem potravinového práva je chránit zájmy spotřebitelů a poskytovat spotřebitelům základ, který jim umožní vybírat se znalostí věci potravin, které konzumují.

Jeho cílem je rovněž zabránit

- a) podvodným nebo klamavým praktikám;
- b) falšování potravin a
- c) jakýmkoli jiným praktikám, které mohou spotřebitele uvést v omyl.

Za prvních 24 hodin web navštívilo 200 tisíc unikátních návštěvníků, kteří zobrazili 4 miliony stránek a průměrně zde strávili 6:45 min. Důvodem návštěvy webu je nejčastěji prověření nakupovaných značek a výrobců a kontrola obchodů, kde spotřebitelé nakupují. V rámci zpětné vazby od spotřebitelů bylo zjištěno, že vytvoření webu považují za žádoucí a užitečný krok státní správy směrem k občanům a vnímají ho jako stránku zaměřující se na odhalování a zveřejňování nekvalitních a nebezpečných potravin.

V roce 2012 bylo na webu zveřejněno celkem 728 nevyhovujících potravin (v kategorii nebezpečné 418, falšované 172 a nejakostní 138). Rozdělení výrobků do jednotlivých kategorií je uvedeno v Grafu č. 1. Tabulka č. 1 udává statistický přehled počtu návštěvníků webu a počty záznamů jednotlivých potravin k datu 24. 5. 2013.

Graf č. 1: Rozdělení výrobků do kategorií v roce 2012**Tabulka č. 1:** Statistika ke dni 24.5.2013

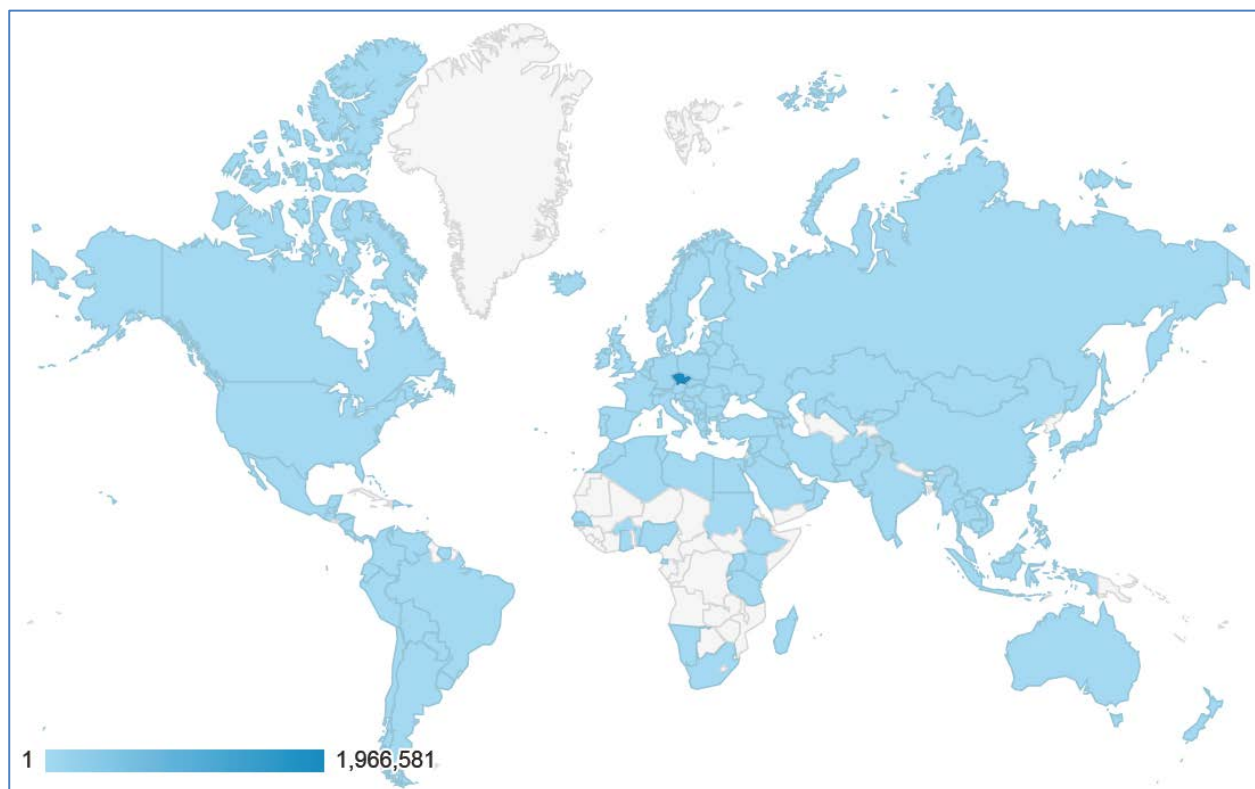
Počet návštěv	2 101 710
Zobrazeno stránek	23 422 748
Unikátní návštěvníci	1 161 853
Aktuální záznamy	345
Archivní záznamy	667

Největší část návštěvníků webu je z České republiky, v zahraničí byl web otevřen již ze 145 různých států. Nejčastěji se jedná o návštěvníky ze zemí Slovensko, Polsko, Německo, Velká Británie, Itálie, USA, Rakousko, Francie. Na obrázku č. 1 je patrné, z kterých zemí byl již web navštíven. Nejvíce je zvýrazněná v srdci Evropy Česká republika.

Potraviny na pranýři prochází postupným vývojem, jsou přidávány nové funkce a možnosti. V lednu 2013, kdy byl web v provozu půl roku, byl spuštěn archiv, kam jsou přesouvány záznamy o nevyhovujících potravinách zveřejněné déle než půl roku. Účelem archivu je přehlednost. Byla přidána funkce zobrazení místa kontroly na mapě a možnost zaslání připomínky webu přímo administrátorovi webu.

Zájemci si mohou registrovat svoji emailovou adresu, na kterou poté dostávají pravidelné informace o nově zveřejněných potravinách. V dubnu 2013, kdy si „novinky“ nechávalo zasílat téměř 14 tisíc uživatelů, byly do zasílaných informací přidány nové grafické prvky a poznámka pro spotřebitele, která u každé potraviny vysvětluje, v čem potravina nevyhověla právním předpisům. Dále se rozšířily možnosti vyhledávání – nově lze na webu vyhledávat i podle nevyhovujícího parametru, PSČ místa kontroly, adresy nebo GPS souřadnic; byl spuštěn RSS kanál a web byl přizpůsoben zrakově znevýhodněným spoluobčanům.

Obrázek č. 1: Mapa světa se zvýrazněnými státy, ze kterých byla webová stránka www.potravinynapranryi.cz zobrazena.



V květnu 2013 byla spuštěna nová sekce webu „**Informace**“, ve které jsou umístěné obecné informace týkající se potravin, potravinového práva a fungování webu. Jsou zde umístěné i rubriky „Internet a jeho rizika“ a „Hoaxy“. V rubrice „Internet a jeho rizika“ naleznou spotřebitelé rady a upozornění, na co si dát pozor, při nákupu potravin na internetu, včetně Seznamu rizikových webových stránek a výrobků. Do rubriky „Hoaxy“ budou postupně přidávány upozornění na nedůvěryhodné zdroje informací a poplašné zprávy na internetu (např. Recyklace mléka – chybějící čísla na tetrapacích). Obrázek č. 2 zobrazuje infomační sekci webu Potravin na pranýři, včetně všech rubrik.

Web zvítězil v anketě Křišťálová lupa – Cena českého internetu 2012 v kategorii Veřejně prospěšná služba. Vítěze v této kategorii určuje hlasování veřejnosti (hlasovalo přes 87 tisíc lidí).

Obrázek č. 2: Náhled Informační sekce webu




[Potraviny](#)
[Archiv](#)
[Rizika internetu](#)
[i Informace](#)

[Textová verze](#)
[Připomínky](#)
[Odkaz](#)
[Novinky](#)
[Rss](#)
[Tisk](#)



potraviny na pranýři

nejakostní, falšované a nebezpečné potraviny





Hledání informací a zajímavostí [Hledej](#) [Podání podnětu](#)

Základní informace

Informace o projektu Potraviny na pranýři. Základní funkce webu.

Slovníček pojmů aneb když se řekne

Vysvětlení základních pojmů potravinářské terminologie a pojmů použitých na tomto webu.

Vysvětlení nevyhovujících parametrů

Popis nevyhovujících parametrů u jednotlivých komodit potravin.

Stručně o potravinovém právu

Uvádíme pouze orientační průřez obsahem jednotlivých právních předpisů. Uvedené informace není možné považovat za citace...

Nejčastější dotazy

Odpovědi na Vaše dotazy.

Potraviny tak, jak je možná neznáte

Zajímavé informace o potravinách.

Internet a jeho rizika

Upozornění na praktiky některých internetových obchodníků

Nedůvěryhodné zdroje informací – hoaxy

Poplašné zprávy ze světa potravin na internetu.

Údaje uvedené v sekci „Informace“ webu Potraviny na pranýři jsou určeny pro veřejnost a jsou pouze informativní povahy. Nejedná se o závazná stanoviska Státní zemědělské a potravinářské inspekce k aplikaci právních předpisů v oblasti potravinového práva. Tato stanoviska jsou k dispozici na internetové stránce www.szpi.gov.cz.



Informace o projektu Potraviny na Pranýři
© Státní zemědělská a potravinářská inspekce 2012

Počet návštěv na tomto webu: 2 087 232

R 2**VÝVOJ KVALITY VÝROBKŮ Z OVOCE A ZELENINY**

Čížková H., Voldřich M.

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

Použité receptury, postupy zpracování ovoce a zeleniny a podmínky skladování jsou hlavními faktory, které přímo ovlivňují kvalitu finálních výrobků.

Výzkum a vývoj nejčastěji zahrnuje tyto, v některých bodech protichůdné, oblasti:

1. Snižování obsahu přídatných látek
2. Prodloužení trvanlivosti výrobků, zlepšení stability
3. Zvyšování výživové hodnoty, využití výživových a zdravotních tvrzení
4. Návrat k původním recepturám
5. Využití netradičních surovin
6. Zvýšení atraktivity výrobků pro spotřebitele

S výše uvedeným jsou spojeny i směry nových nebo inovovaných technologií používaných v oblasti zpracování ovoce a zeleniny, z nichž některé se již na českém trhu uplatňují (ale protože jsou dražší než konvenční technologie, bojují se zájmem spotřebitelů), jiné jsou ve fázi výzkumu, u některých jejich rozvoj omezuje současná evropská legislativa. Jedná se například o minimálně opracované ovoce a zeleninu, ovocné a zeleninové šťávy konzervované vysokým tlakem (tzv. paskalizace, výrobky českého původu viz obrázek 1), ošetření kapalných výrobků pulzním elektrickým polem o vysoké intenzitě (HIPEF) a využití aktivních a inteligentních obalových prvků. Trendy v potravinářských inovacích vedoucí ke zlepšení kvality výrobků z ovoce a zeleniny se odrážejí i v dotačních titulech Ministerstva zemědělství v Programu rozvoje venkova (podopatření Spolupráce při vývoji nových produktů, postupů a technologií v potravinářství). Tento typ dotací je zaměřen na rozvoj inovací (zavedení nové technologie, nového výrobního postupu či výrobku nebo také zlepšení stávající technologie výroby nebo produktu) v rámci zemědělsko-potravinářské výroby spoluprací se subjekty podílejícími se na výzkumu a vývoji. Příkladem jsou následující projekty: Spolupráce při vývoji ovocných náplní a přípravků z jablek s lepšími senzorickými vlastnostmi (Lady Marmelade), Vývoj ochucených olejů a octů se zdravotním benefitem – manipulační zařízení (Delimax), Funkční potraviny na bázi mléčně kysané a sterilované zeleniny (Hamé), Spolupráce při zavádění a optimalizaci nové technologie výroby minimálně opracovaného ovoce (Ekofruct Slaný).

Současné jsou vytvářeny, ověřovány a aplikovány nové metody a postupy hodnocení obsahu a složení výživově prospěšných látek, jakostních senzorických parametrů a autenticity výrobků.

V rámci vlastní přednášky byly trendy ve vývoji kvality výrobků prezentovány na vybraných konzervářských výrobcích (ovocné šťávy, povidla, dětské ovocné výživy, sterilované okurky a kečupy) a to z hlediska obsahu nutričně významných složek (antioxidanty, kyselina askorbová, polyfenolické látky, degradační produkty cukrů jako indikátory záhřevu a skladování), z pohledu podílu ovoce a zeleniny ve výrobku, a z pohledu stability a trvanlivosti výrobku a vzniku případných defektů. Jako příklad níže uvádím studii vývoje kvality výrobků z rajčat



100 % šťáva z mrkve (trvanlivost 10 dní při teplotě do 5°C, www.beskyd.cz).



100% šťáva ze zeleniny a ovoce (trvanlivost 3 týdny při teplotě do 8°C, <http://www.ugo.cz/>)

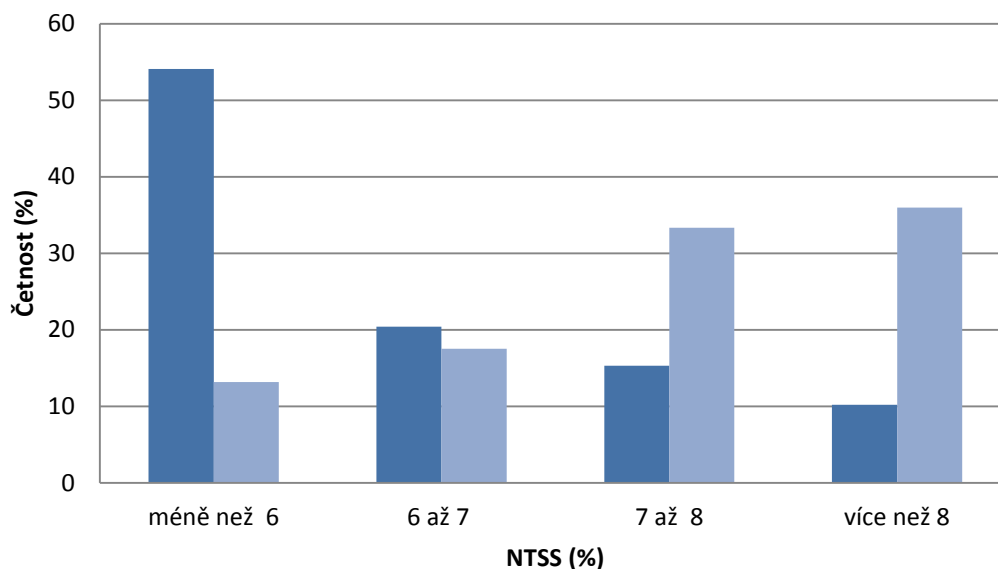
Obrázek 1: Nové výrobky na českém trhu konzervované vysokým hydrostatickým tlakem

Studie – vývoj kvality kečupů na českém trhu

Kečup patří v České republice k jednomu z nejoblíbenějších druhů konzervovaných zeleninových výrobků. Je vyroben z rajčatového protlaku, koření, soli, octa a sladidla a případně dalších přísad (například stabilizátorů a konzervačních látek). Velké rozdíly v kvalitě výrobků na trhu jsou dány použitými surovinami, recepturami a technologickými úpravami. K nedodržení legislativních požadavků na tento typ výrobků dochází především z důvodu vysoké ceny vstupní suroviny – rajčatového protlaku. Rajčatový podíl je pak nahrazován v lepším případě přidavkem levnější přírodní složky (jablečnou dření, karotkou, cibulí), v běžném případě přidavkem cukerných sirupů, modifikovaných škrobů nebo jiných aditiv. Tyto náhrady se pak odpovídajícím způsobem promítají na ceně výrobku (jejím snížením), na senzoričných vlastnostech (nezvyklá barva, chuť a konzistence) a nutriční hodnotě (snížení obsahu nutričně významných látek pocházejících z rajčat).

S prověřováním kvality rajčatových výrobků se začalo v České republice v devadesátých letech dvacátého století. Rajčatové výrobky, především kečupy a rajčatové omáčky, dosahovaly v té době značného rozmachu. Český trh zaplavilo mnoho výrobků, které se honosily názvem rajčatový kečup či rajčatový protlak. A jelikož převážná část z těchto výrobků nesplňovala legislativní požadavky na podíl rajčat (označení v legislativě: refraktometrická sušina vnesená rajčatovou surovinou, požadavek minimálně 7%, jinak také označováno jako obsah rajčatové sušiny, natural tomato soluble solids, NTSS), byla ve spolupráci se SZPI Praha vyvinuta metodika na zjištění obsahu rajčatové sušiny a započala systematická kontrola výrobků na trhu. Uvedená metodika je založena na stanovení obsahu látek charakteristických pro rajčata a přirozeně se nevyskytujících v dalších složkách kečupu: kyselina jablečná, kyselinu citrónová, draslík, formolové číslo a kyselina pyroglutamová.

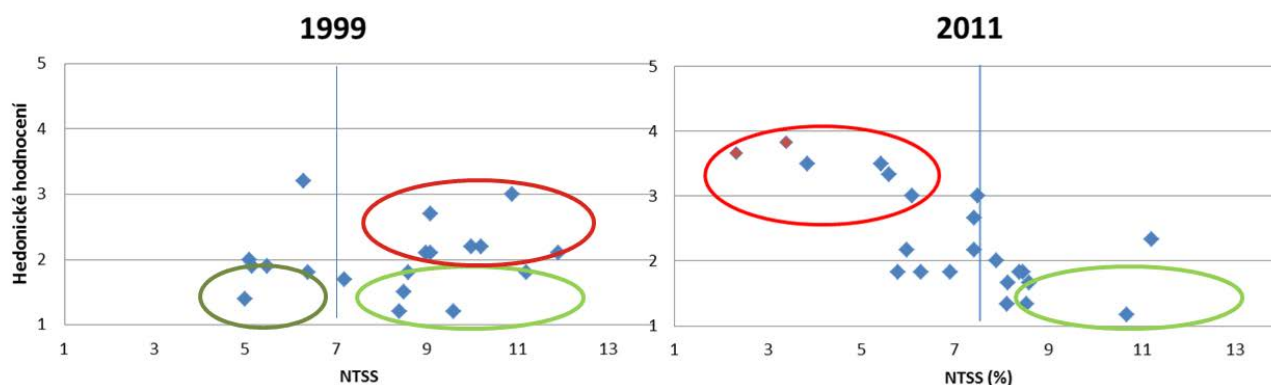
Během let 1999 až 2013 byly v naší laboratoři sledovány a hodnoceny vzorky kečupů na českém trhu, bylo celkem proměřeno přes 500 vzorků. Během prvních let po vývoji metodiky a začátku kontroly výrobků bylo zjištěno, že pouze 44 % rajčatových kečupů by odpovídalo příslušné komoditní vyhlášce, a to po započítání 1 % absolutní chyby odhadu rajčatového podílu. Přibližně stejné množství vzorků (43 %) se pohybovalo v rozmezí 5-6 % rajčatové sušiny vnesené rajčatovou surovinou (obrázek 2, celkový počet měřených vzorků 173). Lze říci, že situace na českém trhu se od té doby, tj. období kdy i kontrolní orgány začaly systematicky testovat podíl rajčat v kečupech, významně zlepšila, a to přesto, jak ukazují hodnoty naměřené v letech 2007 až 2012 pro 114 vzorků, že se stále určité množství vzorků pohybuje na hranici 6 % rajčatového podílu nebo těsně pod ní.



Obrázek 2: Porovnání situace na českém trhu v období 1999 až 2004 (■) a v období 2007 až 2012 (■)

Názor spotřebitelů na kvalitu kečupů (pro série vzorků kečupů z roku 1999 a 2011) byl zjišťován pomocí senzorické analýzy. Hodnocení příjemnosti celkové vůně, barvy, textury a chutě bylo provedeno podle 5-ti bodové ordinální stupnice (1 = vynikající až 5 = velmi špatná, neodpovídající standardnímu výrobku).

Obrázek 3 ukazuje korelaci mezi podílem rajčat (vyjádřeno jako NTSS) ve výrobku a jeho hedonickým hodnocením. U výsledků z roku 1999 je patrné rozdělení vzorků do tří základních skupin, dvě skupiny výrobků s dostatečným obsahem rajčat, jak je definován vyhláškou, z nichž jedna byla hodnocena lépe, ale vyčlenila se zde také skupina pěti výrobků s nevyhovujícím rajčatovým podílem, které ale byly hodnotiteli zařazeny jako výrobky odpovídající. Z tohoto hodnocení je zjevná skutečnost, že zákazník preferoval sladkou a jemnou chuť výrobku i v případě mírného snížení podílu rajčat. Uvedené skutečnosti byly pravděpodobně výsledkem mnoha let zvykání zákazníků na produkty s pudinkovou konzistencí, obsahující větší podíl škrobových modifikátorů s nižším podílem rajčat, které jsou jemnější a hladší než kvalitní kečupy s vysokým podílem rajčat, s drsnější chutí danou vnesenými rajčaty. Tento přístup již není patrný z výsledků hodnocení kečupů v roce 2011, při kterém, až na výjimky, byly nejhůře hodnoceny výrobky s nižším podílem rajčat.



Obrázek 3: Rajčatový podíl versus senzorické hodnocení – vývoj preference spotřebitelů

Závěr

Závěrem je možno říci, že kvalita výrobků z ovoce a zeleniny je přijatelná a přes v některých případech nelichotivý mediální obraz lze u řady typů výrobků sledovat postupné zlepšování a stabilizaci kvality. A to zásluhou jak samotných výrobců, tak kontrolních orgánů a poučených spotřebitelů.

Podle aktuální informace z portálu SZPI (www.potravinynapranyri.cz) je počet zjištěných nejakostních a falšovaných výrobků z ovoce a zeleniny za letošní rok pouze 12 z celkového počtu záznamů 178. Výrobky nejčastěji nevyhovují v parametru hmotnost pevného podílu (kompoty, konzervovaná zelenina) a obsah ovoce (džemy).

Použitá literatura

Kadlec P., Melzoch K., Voldřich M.: Procesy a zařízení potravinářských a biotechnologických výrob, Key Publishing, 2012

Potraviny na pranýři (portál SZPI) www.potravinynapranyri.cz, k 24.5.2013

Projekt Spolupráce při vývoji nových produktů, postupů a technologií (resp. inovací) v potravinářství (portál SZIF) http://www.szif.cz/irj/portal/anonymous?NavigationTarget=ROLES://portal_content/z.apa/z.roles/z.anon_web/z.web/z.web_opatr/prv_eafrd/obecne_informace/z.1f/z.osa1_f/z.1_f/z.13_f/z.132, k 24.5.2013

Vyhláška č. 157/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovanou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich, jakož i další způsoby jejich označování v aktuálním znění

Soukupová V., Čížková H., Voldřich M.: Evaluation of ketchup authenticity – chemical changes of markers during production and distribution. Czech J. Food Sci. 22 Special Issue, 349 – 352, 2004.

R 3**ČESKÝ ČESNEK: CHARAKTERIZACE, KVALITA A AUTENTICITA ČESNEKU**Hrbek V.¹, Vodrážka P.¹, Cajka T.¹, Ovesná J.², Hajšlová J.¹¹ Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav chemie a analýzy potravin, Technická 5, 16628 Praha 6² Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Drnovská 507, 161 06 Praha 6**Úvod**

Tradičními plodinami, které jsou již po tisíciletí považovány nejen za vhodný doplněk stravy ochucovadlo, koření, ale i léčivou rostlinu, jsou zeleniny r. *Allium*. Nejvíce využívaným zástupcem je česnek (*Allium sativum* L.). Česnek obsahuje řadu cenných látek, nejznámějšími jsou sirné aminokyseliny (S-alk(en)yl-L-cysteinsulfoxidy, ASCO), které podmiňují aroma česneku, ale také jsou odpovědné za pozitivní vliv na zdraví. Česnek však obsahuje řadu dalších biologicky aktivních látek, vedle vitaminů i látky s protivirovými účinky. Produkce česneku, vzhledem k náročnosti pěstební technologie v rámci ČR a EU významně klesla. V tržní síti se dnes vyskytují především dovezené česneky čínského původu, z evropských producentů lze jmenovat Španělsko. Domácí spotřebitelé dávají přednost česnekům z místní produkce. Jeho produkce je ale poměrně drahá oproti ceně dovážených česneků. Z těchto ekonomických důvodů někteří prodejci mohou vydávat importovaný česnek za tuzemský. Proto je třeba mít účinný nástroj k odhalení tohoto druhu falšování, resp. nástroj pro hodnocení autenticity původu česneku.

Vzorky

Experimenty byly provedeny na vzorcích česneku setého (*Allium sativum*). První část vzorků česneku byla zakoupena v obchodní síti nebo od soukromých pěstitelů v ČR. Jednalo se o česnek s označením země původu Česká republika, Španělsko a Čína. Devatenáct vzorků pocházelo z České republiky, jedenáct z Číny a sedmnáct ze Španělska. Deset zakoupených česneků mělo morfotyp nepalíček a čtyřicet sedm monotyp palíček. Další část analyzovaných vzorků dodal Výzkumný ústav rostlinné výroby v Praze-Ruzyni v.v.i. v rámci projektu ministerstva zemědělství „Bezpečná a kvalitní zelenina r. *Allium* se zaměřením na česnek z domácích zdrojů“. Jedná se o vzorky česneku vypěstované v České republice několika pěstiteli. Tyto vzorky mají morfotyp palíček.

Příprava vzorku

Přibližně 20 g nepoškozených oloupaných stroužků česneku se vloží do laboratorního mixéru. Ke vzorku se odměří 60 ml inhibitoru allináz O-(karboxymethyl) hydroxylaminhemihydrochlorid (OCMHA; 1,1 g/l, rozpouštědlo MeOH) a 2 ml vnitřního standardu norleucinu (5 g/l, rozpouštědlo voda). Vzorek se 1 minutu homogenizuje, přičemž současně dochází k extrakci. Vzniklá suspenze se převede do 50ml centrifugační kyvety, odstředí se (5 min, 10 000 rpm, 20 °C) a přefiltruje se přes mikrofiltr (0,22 µm). Takto připravený extrakt byl použit pro všechny typy analýz. Pro stanovení methiinu a propiinu se vzorek ředí 1:9 (MeOH), pro stanovení alliinu se ředí 1:39 (MeOH). Po ředění se roztok přefiltruje do tmavých skleněných 2 ml vialek.

Stanovení sušiny: 5 g čerstvě rozdrceného česneku bylo naváženo do suchých váženek. Ty byly vloženy do sušárny a při teplotě 105 °C byly sušeny po dobu šesti hodin. Vzorky byly poté zchlazeny v exsikátoru a zváženy. Z rozdílu hmotnosti byl vypočítán obsah sušiny.

Analýza vzorku

Pro analýzu vzorku byly zvoleny dvě základní strategie 1. cílová analýza sirných aminokyselin (ACSO) a 2. necílová analýza pro charakterizaci vzorků česneku (oddělení geografického původu vzorků).

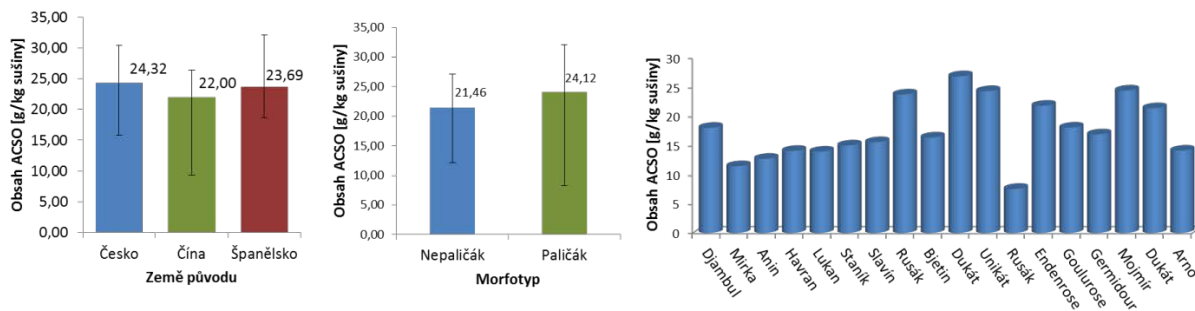
Analýza ACSO byla provedena pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí HPLC-ESI(+)-OrbitrapMS (analyzátor typu Orbitrap). Pro analýzu byla použita HILIC kolona (2.1×150 mm, 3 µm) a mobilní fáze A: voda s 50 mM mravenčanem amonným a 0,2 % HCOOH a B: acetonitril.

Pro necílovou analýzu bylo využito tří metod: 1) DART-MS, 2) UPLC-ESI-QTOFMS a 3) přímý nástřik vzorku do hmotnostního spektrometru DI-ESI-TOFMS. U všech technik bylo měření provedeno v obou módech ionizace(+/-).

Při všech analýzách byl používán stejný extrakt vzorku.

Výsledky a diskuse

Stanovení obsahu sirných aminokyselin LC-MS

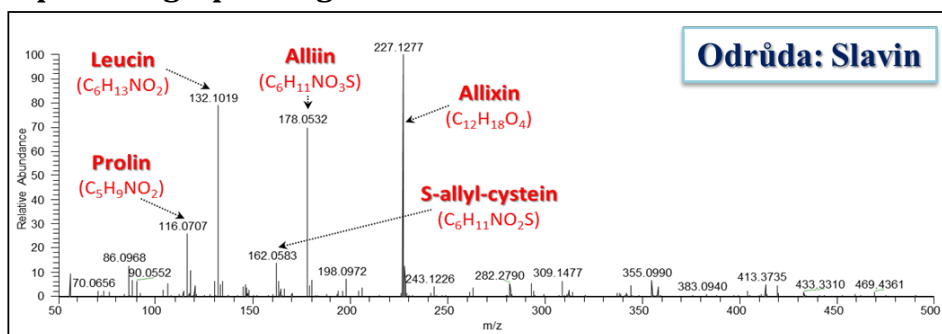


Obr.1.: grafické znázornění výsledků obsahu sirných aminokyselin v česneku – porovnání

Z pěti zkoumaných aminokyselin byly v česneku detekovány tři (alliin, methliin, propiin). Ethiin a buthiin byly pod mezí stanovitelnosti, která odpovídá koncentraci 0,1 mg/kg vzorku. Tyto dva analyty se v česneku nevyskytují.

Z obr.1 je patrné, že průměrný obsah ACSO se výrazně neliší při porovnání země původu česneku. Z výsledků také vyplývá, že obsah ACSO je velice variabilní. Výsledky analýzy námi nakoupených vzorků však ukázaly, že není zásadní rozdíl mezi oběma morfotypy česneku. Z analýz je též patrná i variabilita obsahu sirných aminokyselin ve vzorcích česneků jednotlivých odrůd.

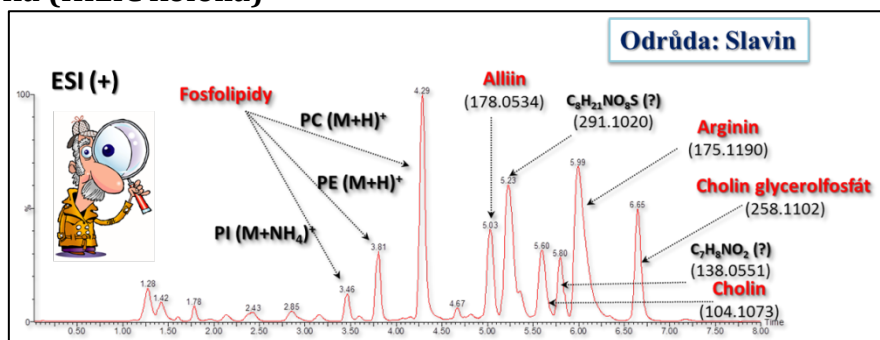
DART-OrbitrapMS - fingerprinting



Obr.2.: příklad hmotnostního spektra (fingerprintu) extraktu česneku získaného měřením DART(+)-MS

Na obr.2 je uveden příklad hmotnostního spektra vzorku česneku. Ve spektru jsou patrné dominantní ionty m/z 116 prolin, m/z 132 leucin, m/z 178 alliin a m/z 227 allixin. Identifikace těchto iontů byla provedena dle měření přesné hmoty, výpočtu sumárního vzorce a znalostí z odborné literatury. Tato cesta metabolického fingerprintu se jeví jako vhodná metoda pro charakterizaci česneku a pro odlišení a rozpoznání jednotlivých odrůd česneku.

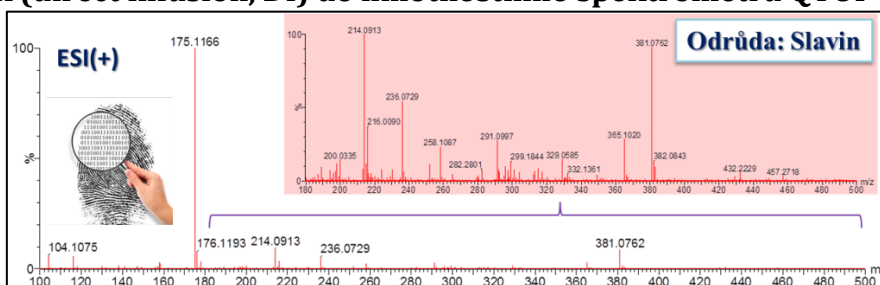
LC-QTOF MS: použití techniky LC-MS pro získání metabolického fingerprintu vzorků česneku (HILIC kolona)



Obr.3.: příklad chromatografického záznamu získaného měřením extraktu česneku pomocí LC-ESI(+)-MS

Na obr.3 je uveden chromatogram extraktu vzorku česneku s identifikovanými píky náležícími fosfolipidům. V retenčním čase (TR) 3,46 min se jedná o látky patřící do skupiny fosfatidylinositolů (PI), TR 3,81 min látky příslušné ke skupině fosfatidylethanolaminům (PE) a TR 4,29 min nejdominantněji zastoupené látky, které patří do skupiny fosfatidylcholinů (PC). Další identifikovanou látkou je alliin (TR 5,03 min). Je to látka, která se vyskytuje v česneku ve velkém množství, proto jako jediná sirná aminokyselina je i výrazná v chromatografickém záznamu. Další aminokyseliny jsou cholin (TR 5,60 min), arginin (TR 5,99 min), jakožto nejdominantnější volná aminokyselina v česneku, a nakonec cholin glycerolfosfát (TR 6,65 min).

Přímý nástřik (direct infusion, DI) do hmotnostního spektrometru QTOF MS

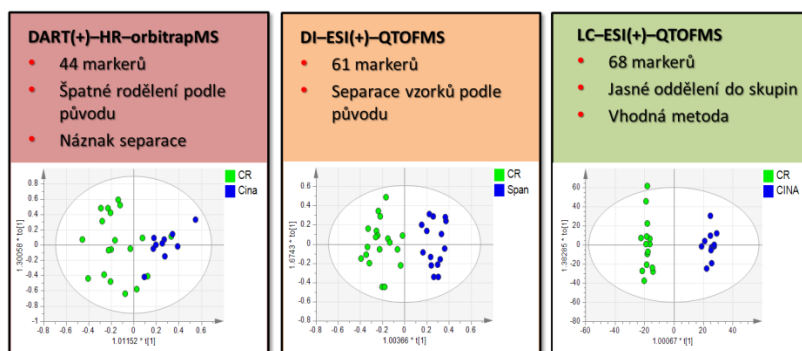


Obr.4.: příklad MS spektra (fingerprintu) extraktu česneku získaného měřením DI(+)-MS

Poslední zkoumanou metodou je přímý nástřik vzorku do hmotnostního spektrometru (DI-MS) bez předchozí separace na chromatografické koloně. K této analýze byl opět použit vysokorozlišovací hmotnostní spektrometr QTOF s ionizací pomocí elektrospreje. Opět bylo cílem získat charakteristické metabolické fingerprinty a získaná data statisticky zhodnotit a diskutovat potenciál této techniky při hodnocení autenticity vzorků česneku.

Výsledek chemometrické analýzy

Ze získaných metabolických profilů česnekových extraktů byly zvoleny markery (charakteristické ionty) v pozitivním i negativním módu ionizace. Z naměřeného souboru hodnot byly následně extrahovány intenzity vybraných markerů jednotlivých vzorků. Hodnoty intenzit jednotlivých iontů byly normalizovány a vznikla tak datová matice pro statistické zpracování pomocí chemometrických analýz. Pro chemometrickou analýzu byl využit program SIMCA verze 13.0. Nejdříve byla použita statistická metoda analýzy hlavních komponent (PCA). Tímto krokem se transformovaly původní proměnné, což byly intenzity vybraných iontů (markerů), na nové nekorelované proměnné (hlavní komponenty). Došlo k redukci dimenzí dat, které však zachovaly některé informace z původních dat. Poté byla data zpracována technikou diskriminační analýzy částečných nejmenších čtverců (PLS-DA, OPLS-DA).



Obr.5.: příklady OPLS-DA analýz dat získaných jednotlivými technikami

Závěr

Zjištěné výsledky ukazují, že klasifikace česneku podle země původu založená na obsahu ACSO (alliin, methiin a propiin) je problematická, protože rozdíl mezi obsahem ACSO v českém, španělském a čínském česneku nebyl patrný. Z toho důvodu byl metabolomický fingerprint (necílová analýza) zvolen jako vhodnější postup pro odlišení původu česneku.

Profilování pomocí techniky DART-orbitrapMS však neposkytlo dostatečné informace k oddělení původu vzorků česneku, respektive markery v DART zdroji zřejmě neionizují, nebo pouze slabě. Při porovnání českého a čínského česneku sice došlo k určité separaci vzorků, ale model neměl dostatečnou rozpoznávací schopnost. Z toho důvodu se technika DART-orbitrapMS jeví pro tento úkol jako nevhodná.

Odlišení původu vzorků česneku se však podařilo na základě metabolomického fingerprintingu DI-ESI(+)-QTOFMS. Při použití statistické metody OPLS-DA se podařilo rozlišit vzorky původem z Česka, Španělska a Číny. Do budoucna se tato metoda jeví jako vhodnější nástroj k rychlé analýze původu česneku než DART-MS. Klasifikace vzorků česneku však byla úspěšná pouze v ESI(+), v ESI(–) k žádnému rozlišení podle původu nedošlo.

Chromatografická separace s QTOFMS detektorem se však ukázala jako zdaleka nejlepší technika pro účely metabolomického profilování a fingerprintingu. Díky použití stejné ionizační techniky jako v případě DI-ESI-QTOFMS jsou detekovány i stejné markery, avšak použití chromatografické separace snižuje supresi ionizace a zlepšuje detektabilitu. Tato metoda, kromě generování vysoce opakovatelných a reprodukovatelných dat, poskytuje i dostatečné informace pro identifikaci jednotlivých látek obsažených v česneku. I v tomto případě bylo úspěšné rozdělení vzorků na základě původu. Díky přesné hmotě prekurzorových i produktových iontů bylo možné identifikovat celou řadu komponent. Do budoucna se využití LC-HRMS k účelům klasifikace česneku nejen podle původu, ale i podle odrůd jeví jako výhodnější i přesto, že analýza trvá delší dobu a je náročnější na optimalizaci, neboť množství informací získaných z unikátních vzorků je mnohem vyšší.

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

R 4**KVALITA MASA A MASNÝCH VÝROBKŮ**

Ševčík R.

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

Kvalita masa

Kvalita masa může být definována jednak pomocí nutričních parametrů (např. obsah bílkovin, tuku, nasycených mastných kyselin), ale také pomocí senzorických vlastností, jako je barva, vůně, chuť, textura, vaznost a křehkost. Vliv na tyto vlastnosti má celá řada faktorů. Mezi tyto faktory patří plemeno, pohlaví, stáří zvířete, krmení, způsob chovu, ale také dodržení welfare, způsob jatečného opracování, průběh a doba zrání masa, bourání a způsob prodeje.

Tabulka č.1: Nutriční složení vybraných druhů masa

Druh	Obsah vody (%)	Obsah bílkovin (%)	Obsah tuku (%)	Obsah popela (%)
Vepřová kýta	75,0	20,2	3,6	1,1
Vepřový bok	60,3	17,8	21,1	0,9
Hovězí svíčková	74,6	22,0	2,2	1,2
Kuřecí stehno	73,3	20,0	5,5	1,2
Kuřecí prsa	74,4	23,3	1,2	1,1

Tabulka č. 2: Zastoupení mastných kyselin u vybraných druhů vepřového masa

Druh	Obsah nasycených mastných kyselin (%)	Obsah mono-nenasycených mastných kyselin (%)	Obsah polynenasycených mastných kyselin (%)
Vepřová kýta	1,9	2,4	0,6
Vepřový bok	19,3	24,7	5,7
Vepřové hřbetní sádlo	32,2	42,0	10,4

Z pohledu nutričního složení můžeme maso (čistou svalovinu) považovat za velmi významný zdroj bílkovin (obsahuje všechny esenciální aminokyseliny). Samotná svalovina obsahuje i velmi nízký obsah tuku. V tomto případě se jedná o tuk intramuskulární, který má vliv na chutnost a křehkost masa. Příznivé je i složení intramuskulárního tuku, kdy převládají nenasycené mastné kyseliny. U depotního tuku není tento poměr tak příznivý, ale stále převažují nenasycené mastné kyseliny.

Při prodeji výsekového masa se využívá rozdělení na jednotlivé anatomické části (části jatečných těl s podobnými vlastnostmi). Tyto jednotlivé tržní druhy masa jsou definovány Českými technickými normami (ČSN 57 6510 Hovězí maso pro výsek, ČSN 57 6540 Vepřové maso pro výsek). V normách jsou uvedeny požadavky na maso, jakožto na surovinu pro výsekové maso, způsob dělení jatečných těl na jednotlivé tržní druhy masa, včetně definic jednotlivých tržních druhů. V normách jsou popsány celkem různé typy dělení masa na jednotlivé tržní druhy, jsou to standardní řez (výseková úprava), jakostní řez (kuchyňská úprava) a extra řez (speciální úprava). Bohužel ne vždy je v obchodním styku při označování výsekových mas toto dělení využíváno. Především v maloobchodních řetězcích se můžeme zejména u hovězího masa setkat s dělením pouze na hovězí zadní a hovězí přední maso.

Kvalita masných výrobků

Kvalitu masných výrobků lze hodnotit pomocí senzorických vlastností a obsahu masa (kosterní svaloviny), obsahu čistých svalových bílkovin a obsahu tuku, ale také pomocí obsahu „nemasových“ složek jako jsou například přídavné látky. Složení masných výrobků a tím i kvalita masných výrobků se od 90 let minulého století výrazně změnila. Zrušení závaznosti podnikových norem a zavedení nových technologických postupů se projevilo na změně složení masných výrobků. Snahou alespoň částečně definovat některé jakostní parametry masných výrobků jsou požadavky na jakost a složení vybraných masných výrobků popsané ve vyhlášce 326/2001 sbírky v platném znění.

Tabulka č. 3: Chemické a fyzikální požadavky vyhlášky 326/2001 Sb. na vybrané masné výrobky

Výrobek	obsah masa (% hmot. nejméně)	čistá svalová bílkovina (% hmot. nejméně)	obsah tuku (% hmot. nejvýše)
Špekáček	40,0	-	45,0
Kabanos	50,0	-	40,0
Párek vídeňský	55,0	-	40,0
Párek lahůdkový	50,0	-	35,0
Debrecínský párek	60,0	-	40,0
Párek jemný	50,0	-	35,0
Spišský párek	45,0	-	40,0
Šunkový salám	55,0	-	20,0
Gothajský salám	40,0	-	40,0
Junior salám	40,0	-	35,0
Český salám	40,0	-	40,0
Vysočina	-	13,0	50,0
Turistický trvanlivý salám	-	14,0	40,0
Selský salám	-	13,0	50,0
Poličan	-	16	50,0
Lovecký salám	-	15	50,0
Ostravská klobása	60,0	-	35,0
Dunajská klobása	-	14	55,0
Paprikáš	-	14	50,0
Herkules	-	14	50,0

Snahou vrátit udržet kvalitu masných výrobků je i povinnost pro výrobce označit maso jako kosterní svalovinu. Původní definice masa, která byla vypracována pro účely hygieny a ochrany veřejného zdraví definují maso jako veškeré části živočichů vhodné k lidské spotřebě. Tato definice však neodpovídá tomu, co si představuje pod pojmem maso spotřebitel, a hlavně neinformuje spotřebitele o skutečné povaze masného výrobku. Protože spotřebitelé mají právo být správně a srozumitelně informováni, aby si mohli vybrat potravinu a posoudit rozdíly v prodejních cenách bylo nutno zavést v rámci Evropské legislativy novou definici masa. Tato definice byla formulována ve směrnici Evropské komise 2001/101/ES ze dne 26. listopadu 2001, kterou se mění

směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/13/ES o sbližování právních předpisů členských států týkajících se označování potravin, jejich obchodní úpravy a související reklamy Tato směrnice s účinností od roku 2003 ukládá všem členským zemím EU povinnost, aby zajistily, že výrobci masných výrobků provozující svoji činnost na jejich území označují obsah masa na etiketách výrobků podle nové harmonizované definice, která za "maso" považuje pouze kosterní svalovinu. Definice se vztahuje výhradně na označování výrobků, které obsahují maso jako složku. Nevztahuje se tedy na označování výsekového masa a tělesných částí zvířat, které jsou prodávány bez dalšího zpracování. Maso je tedy definováno jako kosterní svalstvo druhů savců a ptáků uznaných za vhodné k lidské spotřebě, s přirozeně obsaženou nebo přilehlou tkání, pokud celkový obsah tuku a pojivové tkáně nepřekračuje níže uvedené hodnoty (Tab. 4) a pokud maso tvoří složku jiné potraviny.

Tabulka 4: Nejvyšší obsah tuku a pojivové tkáně v mase určeném jako složka při výrobě masných výrobků

Druh masa	Obsah tuku (max. % hmot.)	Obsah pojivových tkání (max. % hmot.)
Maso savců s výjimkou králíčího a RAHA vepřového a směsi druhů mas s převahou masa savců	25	25
Maso vepřové	30	25
Maso drůbeží a králíčí	15	10

Poznámka:

1. *Obsah pojivové tkáně se vypočte z poměru obsahu kolagenu a obsahu svalových bílkovin. Obsahem kolagenu se přitom rozumí obsah hydroxyprolinu vynásobený faktorem 8.*

2. *Jsou-li uvedené hodnoty nejvyššího obsahu tuku a pojivové tkáně překročeny, přičemž jsou splněna všechna ostatní „kritéria definice masa“, musí být obsah druhů masa odpovídajícím způsobem snížen a ve složení musí být kromě složky maso uvedena přítomnost tuku a/nebo pojivové tkáně.*

Z definice je vyjmuto mechanicky separované maso, pro svoji konzistenci a další vlastnosti významně odlišující se od masa. Dále byly vyjmuty srdce, jazyk, svalstvo hlavy (jiné než žvýkací svaly), karpální svalstvo, svalstvo hlezenního kloubu a ocasu. Naopak za součást kosterní svaloviny se považují bránice a žvýkací svaly. Do Českého práva byla harmonizovaná definice masa přenesena novelizací vyhlášky č. 326/2001 Sb. (Vyhláška, kterou se provádí § 18 písm. a), d), g), h), i) a j) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů, pro maso, masné výrobky, ryby, ostatní vodní živočichy a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich) prostřednictvím vyhlášky č. 264/2003 Sb. Přestože novela platí od 1. září 2003 stále se jsou na trhu výrobky, které nejsou označeny v souladu s Českou a Evropskou legislativou, kdy na řadě výrobků tento údaj chybí nebo je vypočítán z obsahu všech výrobních mas bez ohledu na obsah tukové a pojivové tkáně v nich.

Tabulka 5: Z receptur vypočítaný obsah masa jako kosterní svalovina pro různé receptury špekáčku

Receptura	Obsah masa (%)
Špekáčky ČSN 577115	45,8
Výběrové špekáčky PN MP 301/85	67,9
Špekáčky zaručená tradiční specialita	50,5

Vliv na kvalitu masných výrobků má i široká škála nyní používaných aditivních látek, které mají za cíl nahradit nebo podpořit vaznost masa. Jedná se zejména o fosfáty, rostlinné bílkoviny (sójové bílkoviny, bílkoviny pšenice, bílkoviny rýže, hrachu a brambor), živočišné bílkoviny (krevní plasma, Globiny, bílkoviny syrovátky, kolagenní bílkoviny) a některé polysacharidy (karagenan, xanthan, guarová guma apod.).

Poděkování

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.20/2013) a MZe QI91B283.

Použitá a doporučená literatura:

1. Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P.: Food Chemistry, Springer- Verlag Berlin Heidelberg 2009, ISBN 978-3-540-69934-7.
2. ČSN 57 6510 Hovězí maso pro výsek, Český normalizační institut, 2003.
3. ČSN 57 6540 Vepřové maso pro výsek, Český normalizační institut, 2003.
4. SMĚRNICE KOMISE 2001/101/ES ze dne 26. listopadu 2001, kterou se mění směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/13/ES o sbližování právních předpisů členských států týkajících se označování potravin, jejich obchodní úpravy a související reklamy.
5. Pipek, P.: Technologie masa (kapitola 4.6. a 4.7.) Stručný přehled vlastností masa, způsobů získávání, dělení a zpracování na masné výrobky. In.: Kadlec, P. et al.: Principy potravinářských technologií 1.ed. VŠCHT Praha 2002. 536 s. ISBN 80-7080-510-2.
6. NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 2004/2002 ze dne 8. listopadu 2002 o postupu určování obsahu masa a tuku v některých výrobcích z vepřového masa.
7. NAŘÍZENÍ KOMISE (EHS) č. 2429/86 ze dne 31. července 1986 o postupu určování obsahu masa v masných polotovarech a konzervách položky ex 16.02 B b) 1) nomenklatury uvedené v příloze nařízení Komise (EHS) č. 2184/86.
8. Katina, J.: OZNAČOVÁNÍ MASNÝCH VÝROBKŮ, Svazek I, 1. vydání, Vydalo © Sdružení českých spotřebitelů, o.s., Praha, srpen 2010 ISBN: 978-80-904633-0-1.
9. VYHLÁŠKA 326/2001 Sb. Vyhláška Ministerstva zemědělství, kterou se provádí §18 písm. a), d), g), h), i) a j) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů, pro maso, masné výrobky, ryby, ostatní vodní živočichy a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich.

R 5

VÝVOJ KVALITY MLÉKA A MLÉKÁRENSKÝCH VÝROBKŮ Z POHLEDU VÝŽIVY

Kopáček J.

Českomoravský svaz mlékárenský, Praha

R 6**AKTUÁLNÍ TRENDY V PEKÁRENSKÉ VÝROBĚ**

Příhoda J., Sluková M., Krejčířová L.

Ústav sacharidů a cereálií, VŠCHT v Praze

Současný stav v pekárenské výrobě v ČR je charakterizován na jedné straně rozsáhlým sortimentem různorodých výrobků a na druhé straně snahou o zjednodušování technologie a maximální automatizaci výroby.

Rozšiřování sortimentu je vyvoláno zájmem spotřebitelů o co nejpestřejší sortiment a současně konkurenčním bojem výrobců, jejichž kapacita převyšuje poptávku.

Zefektivnění výroby se řeší jednak používáním automatizovaných strojů nebo komplexních linek s univerzálními prvky jako společné vyhnětení a další zpracování těsta a využitím standardních směsí surovin, přičemž variability výrobků se dosahuje použitím rozličných přísad a zdobení a různým tvarováním a náplněmi těst. I pro tyto operace jsou k dispozici automatizované linky.

Zmíněné trendy se především projevují v průmyslové výrobě. Malých pekáren se týká hlavně mechanizace operací, ale i tam se automatizace zčásti uplatňuje. V menších pekárnách je zase častější používání hotových pekařských směsí na speciální druhy výrobků.

Jedním z trendů zejména ve vyspělých zemích je hledání a uplatnění dalších druhů surovin nebo přírodních preparátů k nutričnímu obohacení výrobků. Uplatňují se zde různé netradiční obiloviny, pseudoobiloviny, olejniny a jádroviny, semena rostlin a extrakty, nebo čištěné rostlinné výrony. Nové zdroje jsou hledány převážně v oblastech mimo tradiční mírné pásmo.

Průměrný podíl průmyslové pekárenské výroby se v Evropě zvyšuje. V roce 2012 byl 66 %. Na rok 2016 se odhaduje 69 %. V jednotlivých zemích je ale velmi rozdílný, jak ukazuje Tab. 1.

Tab. 1 Podíl průmyslové pekárenské výroby ve vybraných evropských státech

Stát	Podíl průmyslové výroby (%)
Holandsko	81
Velká Britanie	80
Německo	40
Francie	35
Španělsko	19
Odhad ČR	cca 80

Z tabulky je zřejmé, že průmyslová výroba převládá nejvíce na severní straně Evropy.

Další trendy představují:

- Trvalý růst výroby zmrazeného pečiva.
- Stálý nárůst požadavků na bezlepkové výrobky.
- Požadavky na výrobky s přirozenou vlákninou (z toho zejména trvalý nárůst celozrnné, tmavé mouky).

Širší posouzení a diskusi si zasluhují snahy o snižování podílu zatěžujících cukrů z důvodů:

- U zdravých spotřebitelů není důvod je zcela vypustit.
- Stále existují dohady o vhodnosti úplné náhrady cukru náhradními sladidly.

Zjišťují se možnosti snižování obsahu sodných iontů a naráží se na problémy:

- Je nutné brát ohledy na ovlivnění technologie výroby těst a jejich zpracovatelnost.
- Stanovení hranic nepříznivého vlivu na senzoriku výrobků.

Zmrazované pekařské výrobky v ČR

Výroba zmrazených pekařských polotovarů se dlouhodobě stále rozšiřuje, v zahraničí ještě více než dosud v ČR. K nám se větší část výrobků dováží hlavně z Německa, Francie apod. Během posledních let se zvyšoval dovoz zejména z Polska, kde výroba zmrazených pekařských výrobků hraje významnou roli v exportu.

Podle polské statistiky vývozu je nejvyšší podíl zemí na exportu průmyslově vyráběných zmrazených pekárenských produktů následující: Německo (25 %), ČR (13 %), Velká Británie a Maďarsko (po 7 %), Slovensko a Belgie (po 6 %). Do ČR se nejvíce dováží polotovary jemného a běžného pečiva, ale rozšiřují se nabídky i na dovoz chleba.

V roce 2012 byla doplněna legislativa týkající se zmrazování pekařských výrobků. Vyhláškou Ministerstva zemědělství č. 182/2012 Sb. byla doplněna původní vyhláška č. 333/1997 Sb. Vyhláška č. 182/2012 Sb. zavádí pro prodejce povinnost informovat spotřebitele o zmrazeném pečivu a definuje čerstvost pekárenského výrobku. Stručně lze ve smyslu vyhlášky charakterizovat čerstvý výrobek jako takový, u kterého nebyl přerušen technologický proces až po upečení a uvedení do oběhu zmrazením a je nabízen k prodeji nejdéle do 24 h od výroby.

Významná úprava se týká označování nebalených pekařských a cukrářských výrobků. Dosavadní podrobné předpisy o označování výrobků se vztahovaly převážně jen na výrobky balené. V nové vyhlášce (vyhláška č. 182/2012 Sb.), v odd. 3, § 13, odst. j), k) se uvádí:

j) U nebaleného pekařského výrobku, který byl v *hotovém stavu* zmrazen a spotřebiteli je nabízen v rozmrazeném stavu, se tam, kde je výrobek přímo nabízen k prodeji spotřebiteli, viditelně umístí v blízkosti názvu výrobku údaj „**rozmrazeno**“.

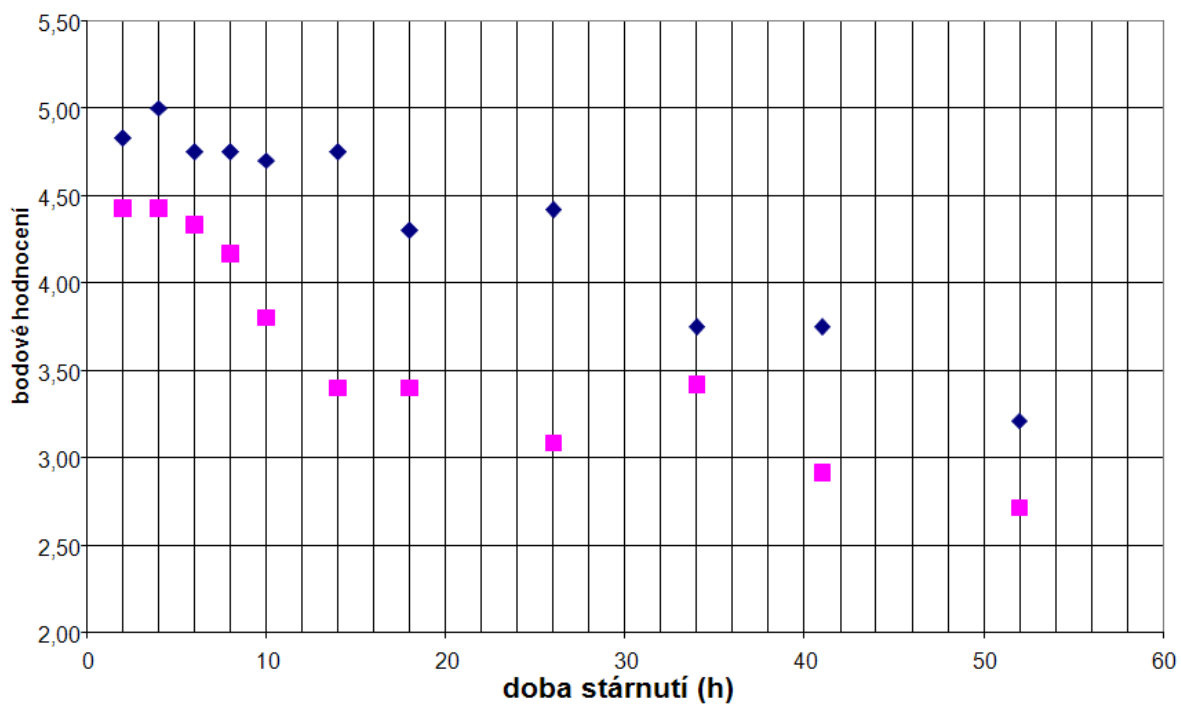
k) U nebaleného pekařského výrobku, který byl *dokončen* ze zmrazeného polotovaru, se tam, kde je výrobek přímo nabízen k prodeji spotřebiteli, viditelně umístí v blízkosti názvu výrobku údaj „**ze zmrazeného polotovaru**“.

Pro zmrazování výrobků existují různé možnosti. Zmrazovat můžeme těsta, polotovary, nebo hotové výrobky. Z hlediska nepříznivého ovlivnění kvality výrobků je nejméně vhodným způsobem zmrazování hotových výrobků. Ale z praktických důvodů, vzhledem k požadavkům obchodu na operativní zacházení, je požadováno především zmrazování hotových výrobků nebo aspoň předpečených polotovarů. Během hlubokého zmrazení probíhají drobné změny bílkovinné struktury, které ovšem spotřebitel nezaznamená. Po rozmrazení, příp. dopečení probíhá tuhnutí střídy rychleji než u čerstvě pečených výrobků. Příčinou je retrogradace škrobu, tedy navrácení škrobových granulí do původní zčásti krystalické struktury, což vede k tuhnutí střídy. Tyto výrobky po zmrazení tedy nejsou vhodné po delší uchovávání a nejlépe je konzumovat je čerstvé. Z hlediska výživového a zdravotního nemá zmrazení žádný významný vliv, snad jen s možnou nepatrnou změnou rychlosti digesce rekrystalovaných škrobových zrn. K tomu, aby se stárnutí zmrazovaných výrobků zpomalilo, se doporučuje používat vyšší dávky tuku do těsta, anebo přidávat zlepšující prostředky zpomalující retrogradaci.

Největší dopady stárnutí (tuhnutí střídy) v důsledku zmrazování jsou patrné u kynutého pečiva. Výrobky z listových a lineckých těst, díky vyššímu obsahu tuku, nejsou zmrazováním negativně ovlivněny a v praxi se u nich zmrazování velmi dobře uplatňuje.

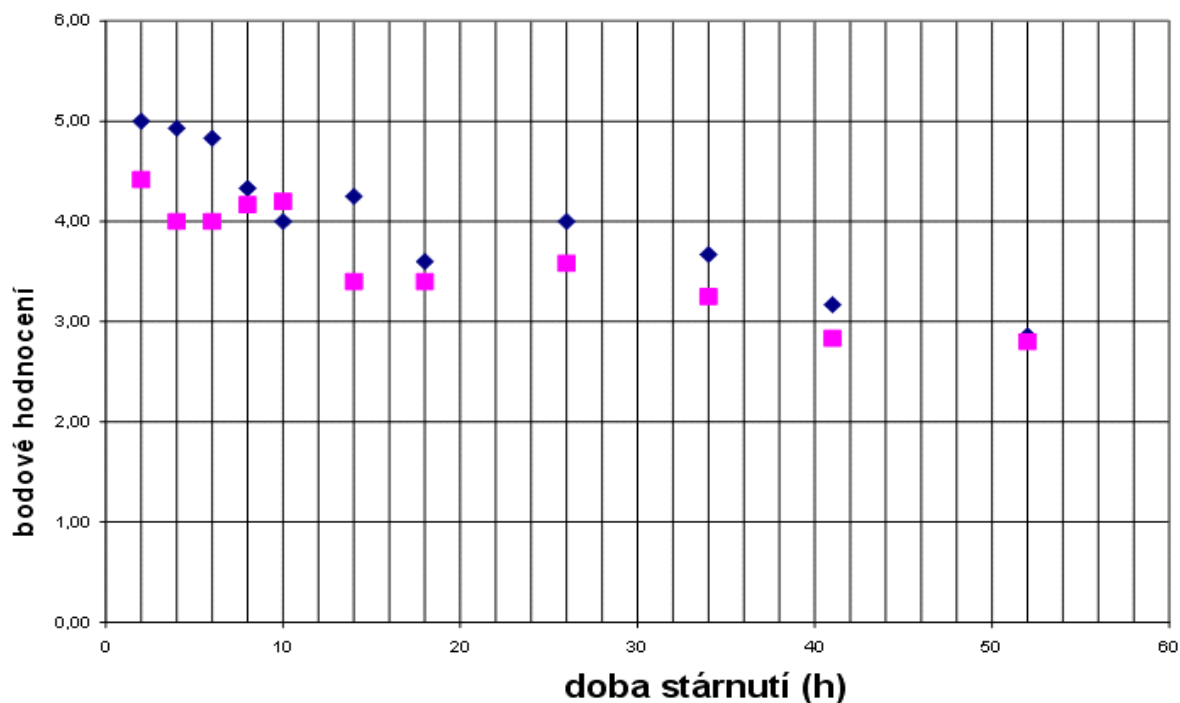
Ve spolupráci Ústavu sacharidů a cereálií a senzorické laboratoře VŠCHT a Podnikatelského svazu pekařů a cukrářů ČR proběhlo srovnávací hodnocení mechanických vlastností střídy pečiva čerstvého a dopékaného po zmrazení. Testovalo se běžné pečivo se 3 % tuku (Obr. 1) a 6 % tuku (Obr. 2).

Ze srovnání obr. 1 a 2 je zřejmé, že pečivo se 3 % tuku po zmrazení stárlo výrazně rychleji. U pečiva se 6 % tuku probíhalo stárnutí pomaleji a od pečiva čerstvého se tak výrazně nelišilo.



Obr. 1 Senzorické hodnocení střídý běžného pečiva čerstvého a dopékaného po rozmrazení s 3 % tuku v receptuře

◆ čerstvé pečivo
 ■ dopékané pečivo



Obr. 2 Senzorické hodnocení střídý běžného pečiva čerstvého a dopékaného po rozmrazení s 6 % tuku v receptuře

Další světové trendy u pekárenských výrobků

Celosvětově se projevují dva hlavní trendy v sortimentu:

- rozšiřování „etnických“ výrobků
- uplatnění nutričních a zdravotních zvýhodnění hlavně výběrem surovin a přísad

Z hlediska zdravotních požadavků na výrobky se rozsáhle projevuje zájem zvyšování podílu vlákniny a značně roste zájem o bezlepkové výrobky a o snižování obsahu sodných iontů ve výrobcích.

Snaha o rozšiřování sortimentu pekařských výrobků je vedena především marketingovým zájmem využít zvyklostí spotřebitelů. Uvedení nových druhů výrobků na trh a jejich masivní nákup je do určité míry módní a časová záležitost. Další rozšiřování sortimentu o etnické výrobky souvisí s pohybem etnických skupin obyvatel, kteří směřují k uplatnění svých konzumačních zvyklostí i při nákupu.

Zdravotní zájmy

Poměrně velkou publicitu mají snahy o snižování energetické hodnoty pekařských výrobků. Jednou z cest je zvyšování podílu vlákniny. Informace o tom ale bývají často povrchní a spotřebitelé jsou málo informováni o pozitivní roli rozpustné obilné vlákniny. Při ohromné převaze pšeničných výrobků se málo uplatňují naše obiloviny s vhodnou rozpustnou vlákninou, tj. žito s arabinoxylany a ječmen a oves s β -glukany, obojí s prokázanými zdravotně prospěšnými účinky. Na druhé straně ani u výrobců není rozšířené povědomí o rozumném dávkování vlákniny (formou celozrnných mouk nebo obilných šrotů) do pekařských výrobků v určitých mezích a současně o jejich vhodných formách. Využití izolovaných složek vlákniny není v pekárenské výrobě obvyklé.

Ne zcela jednoznačné závěry lze vyslovit o dalších požadavcích, o snižování podílu zatěžujících (využitelných) cukrů a rozšiřování sortimentu bezlepkových výrobků. Spotřebitele téměř nikdo neupozorňuje na základní skutečnost, že zdravý konzument by měl mít pestrou stravu a strava s omezením nebo vyloučením přirozených cukrů (zejména sacharózy) pro něj neznamena zdravotní výhodu. Kromě toho se stále vedou diskuse o vhodnosti masového používání náhradních sladidel.

Podobně celosvětově se rozšiřující požadavek se týká výrobků bez lepku, kde může být obilná bílkovina obvykle nahrazena různými polysacharidy za přispění zlepšujících výrobků do těsta, což nemusí být pro zdravého spotřebitele zdravotní výhodou.

Možnosti snižování sodných iontů a tudíž náhrady chloridu sodného (NaCl) v pekařských jsou omezené. Chlorid sodný má značný technologický význam pro konzistenci a zpracovatelnost těsta, což je pro průmyslové zpracování zásadní podmínka. Z hlediska ovlivnění senzorických vlastností dochází při snižování obsahu NaCl nejen ke snížení slanosti, ale také k pocitu nedostatečné plné chuti výrobku. To nemusí být rozhodující pro nemocné konzumenty, ale zdraví spotřebitelé s tím často nejsou spokojeni. Pro speciální diety byla navržena náhrada chloridu sodného chloridem draselným (KCl), chuťové zhoršení však bylo značné (hořká až kovová chuť výrobku).

R 7**VÝVOJ SPOTŘEBY, PŘÍJMU ŽIVIN A POPTÁVKY PO POTRAVINÁCH**

Štiková O.

Ústav zemědělské ekonomiky a informací (ÚZEI) Praha

ABSTRAKT

K nejdůležitějším faktorům působícím na spotřebu potravin patří vývoj koupěschopné poptávky. Ve sledovaném období výrazně vzrostla celková úroveň spotřebitelských cen, ceny potravin se zvyšovaly podstatně nižším tempem, ale k nejvyššímu růstu došlo u příjmů. S čerstvostí a kvalitou zboží je spokojena většina zákazníků, po poklesu „spokojenosti“ došlo v roce 2011 k návratu k pozitivnějšímu hodnocení. Roste však podíl domácností, jejichž nákupní chování ovlivňuje ekonomická situace. Tyto změny se promítly i do spotřeby potravin, kdy došlo ke snížení spotřeby živočišných potravin (obvykle vyšší ceny) a růstu spotřeby potravin rostlinného původu (nižší ceny). Přitom se u většiny potravin a potravinových skupin spotřeba zvýšila nebo stagnovala. Z hlediska kvalitativního hodnocení spotřeby (nutriční hodnocení) došlo ve výživě většinou k pozitivním posunům. Přesto struktura spotřeby zdaleka neodpovídá zdravotním doporučením.

R 8**VÝVOJ KVALITY TUKŮ V POTRAVINÁCH Z POHLEDU VÝŽIVY**

Dostálová J., Doležal M.

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

Úvod

Tuky mohou působit v lidské výživě pozitivně i negativně. Pozitivem je, že jsou zdrojem energie, esenciálních mastných kyselin, v tuku rozpustných vitaminů, sterolů aj., dále vznik látek, které podmiňují charakteristické sensorické vlastnosti potravin a pokrmů a vliv na jemnost chuti a příjemnost při žvýkání a polykání. Za negativní se v současné době považuje vysoký příjem tuku a zejména nevhodné složení mastných kyselin přijímaného tuku. Celkový podíl tuku v energetickém příjmu by neměl u dospělých překročit 30 % optimální energetické hodnoty (tzn. u lehce pracujících dospělých cca 70 g na den), u vyššího energetického výdeje 35 %, příjem nasycených mastných kyselin (SFA) by měl být nižší než 10 % (20 g), polyenových (PUFA) 7-10 % z celkového energetického příjmu a příjem trans-nenasycených mastných kyselin (TFA) by měl být co nejnižší a neměl by překročit 1 % (cca 2,5 g/den) z celkového energetického příjmu (1). Z hlediska vzniku některých neinfekčních onemocnění, zejména nemocí kardiovaskulárních, jsou za nejrizikovější považovány TFA.

Výrobci se snaží vyvíjet tukové výrobky se složením odpovídajícím současným znalostem vědy, zejména v oblasti výživy. Jedná se hlavně o níže uvedené změny.

Významné změny ve výživové a technologické kvalitě rostlinných olejů ke kterým došlo v posledních desetiletích.

- *Řepkový olej* - vyšlechtění nízkoerukových druhů řepky olejné s olejem obsahujícím max. 2 % hmot. erukové kyseliny z celkového obsahu MK
- *Slunečnicový olej* – vyšlechtění druhů slunečnice s vysokým obsahem kyseliny olejové obsahujícím min. 75 % hmot. kyseliny olejové z celkového množství MK vhodných pro použití za vysokých teplot
- *Lněný olej* – olej s nízkým obsahem kyseliny linolenové
- *Fritovací oleje* - vývoj olejů s vyšší tepelnou stabilitou vhodných pro přípravu pokrmů za vysokých teplot

Významné změny ve složení roztíratelných a pokrmových tuků v posledních letech

- Výrazné snížení obsahu *trans*-nenasycených mastných kyselin, jejichž příjem se podílí na vzniku kardiovaskulárních onemocnění, diabetu 2. typu, obezity i některých druhů rakoviny
- Snížení obsahu tuku u většiny roztíratelných tuků
- Vývoj výrobků obohacených rostlinnými steroly nebo stanoly

Z hlediska výživy je nejvýznamnější změnou výrazné snížení obsahu TFA, ke kterému došlo díky legislativním omezením v některých zemích a osvětě, zejména prostřednictvím médií. Jejich obsah v potravinách se snížil díky omezenému používání částečně ztužených rostlinných tuků vyráběných hydrogenací, které jsou jejich nejvýznamnějším zdrojem. Vývoj obsahu TFA v margarínech je v **tab. č.1**.

Pořadí/	% TFA (z celkových MK)			
Rok	2004	2007	2008	2011
1	27,5	7,2	10,3	1,4
2	26,9	5,4	6,0	1,3
3	26,0	4,8	3,4	1,1
4	22,7	3,3	3,4	0,9
5	18,3	2,6	3,3	0,8

6	16,7	2,5	2,5	0,8
---	------	-----	-----	-----

Vývoj obsahu TFA v margarínu na pečení Hera je uveden v tabulce č. 2

Tabulka č. 2. Vývoj obsahu TFA (% z celkového obsahu mastných kyselin) v margarínu na pečení Hera

Rok výroby	Obsah TFA %	Autor
1990	36,8	Schwarz a Novák, 1996
1993	29,2	Schwarz a Novák, 1996
1999	0,3	Brát a Pokorný, 1999
2002	0,2	Brát, 2003
2004	0,3	Dostálová a Brát, 2004
2007	0,4	Dostálová, Brát, Doležal, Barešová 2007
2011	0,4	Dostálová, Doležal, Šípková, 2012

Změny v obsahu TFA v nejčastěji používaných pokrmových tucích v ČR jsou v tabulce č. 3

Tabulka č. 3. Obsah TFA v pokrmových tucích (% TFA z celkových mastných kyselin)

Výrobek	Rok výroby				
	2004	2007	2008	2009	2010
Ceres soft	22,3	3,9	3,7	-	4,0
Omega	25,1	35,9	2,1	2,4	3,3
Lukana	-	38,1	2,6	-	-
Lira	-	-	-	0,9	0,7

Jak je vidět z uvedených tabulek, které obsahují výsledky našich analýz, obsah TFA v potravinách se snižuje, protože výrobci přestávají používat částečně ztužené tuky. Pozornost se nyní soustřeďuje na obsah nasycených mastných kyselin, jejichž vysoký příjem podporuje vznik zejména nemocí srdce a cév. V nových Výživových doporučeních USDA (2010) (2) je na snížení příjmu nasycených MK kladen obzvláštní důraz. Ke snížení příjmu vyzývá i WHO. Také inovovaná Výživová doporučení Společnosti pro výživu (1) zahrnuje doporučení ke snížení příjmu tuků obsahujících nasycené mastné kyseliny. Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP organizuje kampaň „Nasycené škodí“, kterou podpořila Společnost pro výživu, Fórum zdravé výživy, Poradenské centrum výživa dětí a STOB (3).

Lidský organismus využívá SFA pro různé fyziologické a strukturální funkce, ale vytváří si je v dostatečném množství, a proto není nutný příjem potravou. Vyšší příjem SFA je spojen s vyššími hladinami celkového a LDL cholesterolu v krvi, které jsou rizikovým faktorem nemocí srdce a cév. Ve většině výživových doporučení se nasycené mastné kyseliny podle intenzity vlivu na hladiny krevních lipidů nerozlišují, ale v řadě literárních zdrojů se uvádí, že nasycené mastné kyseliny s krátkým a středním uhlíkovým řetězcem (mastné kyseliny do počtu uhlíkových atomů 10) se metabolizují odlišně a krevní tuky neovlivňují. Hladiny krevních tuků zvyšují kyseliny laurová, myristová a palmitová, kyselina stearová se chová neutrálně.

V devadesátých letech došlo v ČR poklesu příjmu SFA. Na začátku tisíciletí byl příjem SFA cca 18 % energie a nepředpokládá se zlepšení (4). Příjem v USA byl v roce 2005-6 cca 11 % (2). Příjem

< 10 % energie ze SFA a jejich náhrada MUFA nebo PUFA vede ke snížení hladin celkového a LDL cholesterolu a tudíž k menšímu riziku kardiovaskulárních onemocnění; snížení na < 7 % riziko dále snižuje (2).

Hlavními zdroji SFA v ČR již nejsou jen tuky živočišného původu, ale přibýly k nim výrobky, kde se používá kokosový a palmojadrový tuk a palmový olej. Jsou to např. čokoládové výrobky neoznačené jako „čokoláda“, polevy na müsli tyčinkách, mražených krémech, dortech a cukroví, mražené krémy s rostlinným tukem, cukrářské výrobky, rostlinné náhrady smetany a šlehačky, jíšky, dehydrované polévky, sušené sójové nápoje, potraviny smažené na palmovém oleji aj. Složení MK tuku výrobků z některých z výše uvedených skupin zakoupených v letech 2011-2012 je v tab. č. 4-7 (vlastní analýzy).

Tabulka č. 4 - Složení mastných kyselin tuku 16 sezónních výrobků

	Název výrobku	TFA	SAFA	MUFA	PUFA
1	Sněhuliak/Anjel	0,46	93,11	5,48	0,95
2	Mikuláš	11,27	75,80	11,43	1,50
3	Arašíd.pochoutka	0,47	79,90	15,98	3,65
4	Chocolaterie	2,85	92,97	3,69	0,49
5	COSMO	0,62	92,65	5,68	1,05
6	Beti led.čokoláda	0,17	84,21	12,83	2,79
7	Kalendář	38,53	37,61	23,00	0,86
8	Chocolate Friedel	0,49	62,26	33,79	3,46
9	Svíčky	0,07	63,70	32,97	3,26
10	Baňka	1,80	93,42	4,10	0,68
11	Zlatá kolekce (hořká)	0,57	63,77	32,35	3,31
12	Zlatá kolekce (mléčná)	0,54	64,19	31,70	3,57
13	Beruška	1,83	93,31	4,18	0,68
14	Foukané	3,22	92,45	3,55	0,78
15	Salonky (čokoláda)	0,29	95,91	2,54	1,26
16	Salonky (náplň)	0,47	53,23	36,80	9,50

Tabulka č. 5 - Složení mastných kyselin tuku 4 výrobků imitujících čokoládu

	Název výrobku	TFA	SAFA	MUFA	PUFA
1	Mléčná	43,48	30,93	22,82	2,77
2	Arašídová pochoutka	0,54	78,38	17,41	3,67
3	Na vaření	31,98	44,42	22	1,6
4	Zora nugátová	0,79	90,99	6,12	2,1

Tabulka č. 6 - Složení mastných kyselin tuku 4 cukrářských polev

	Název výrobku	TFA	SAFA	MUFA	PUFA
1	Poleva světlá	0,02	91,06	7,68	1,24
2	Cukr. poleva Bílá	2,49	94,38	2,73	0,4
3	Poleva Tmavá	0,11	90,91	7,57	1,41
4	Cukr. poleva Tmavá	44,79	37,7	15,99	1,52

Tabulka č. 7 – Složení mastných kyselin tuku sušených sójových nápojů v ČR (2009 a 2012)

	Název výrobku	Obsah tuku (%)	TFA	SAFA	MUFA	PUFA
1	Soja Milk extra protein (2009)	10	0,1	95,0	2,1	2,7
2	Soja Milk vanilka (2009)	24	0,1	96,5	1,4	1,9
3	Soja Milk natural (2009)	24	0,5	93,2	3,5	2,6
4	SojaMilk Natural (2012)	21,0	0,1	96,5	1,4	2,0
5	SojaMilk Ca+Lecithin (2012)	20,4	0,1	97,1	1,0	1,8

Závěr

V posledních letech klesá příjem TFA, ale stoupá příjem nasycených mastných kyselin, který by měl být nižší než 10 % z celkového energetického příjmu tj. méně než 20 g/den. V praxi to znamená omezení příjmu živočišných tuků s výjimkou rybího tuku. Větší nebezpečí než příjem tuků živočišných představuje příjem tuku kokosového, palmojadrového a palmového. Tyto tuky se stále více používají do různých výrobků, zejména jako náhrada částečně ztužených tuků (mají vysoký obsah negativně působících *trans*-nenasycených mastných kyselin), což ale z hlediska výživového není také příznivé (zejména z pohledu vlivu na krevní lipidy). Tropické tuky jsou relativně levné, mají vyhovující technologické vlastnosti (texturní) a tepelnou stabilitu. Jedná se zejména o následující výrobky: čokoládové výrobky neoznačené jako „čokoláda“, polevy na müsli tyčinkách, mražených krémech, dortech a cukroví, mražené krémy s rostlinným tukem, rostlinné náhrady smetany a šlehačky, jíšky, dehydrované polévky, cukrářské výrobky s tukovou náplní, sušené sójové nápoje a další.

Běžní spotřebitelé si negativní vliv, zejména na vznik kardiovaskulárních onemocnění, těchto výrobků neuvědomují a naopak např. müsli tyčinky považují za „**zdravé potraviny**“. Spotřebitelé, zvláště lidé ohrožení nemocí srdce a cév, by měli sledovat nutriční složení výrobků. Řada výrobců obsah nasycených mastných kyselin uvádí. Surovinové složení ve většině případů vodítkem není, protože povinnost uvádět druh tuku nastane až v prosinci 2014. Dalšími vodítky jsou loga na obalu potravin např. GDA a VíM, co jím (5).

Literatura

1. Dostálová J., Dlouhý P., Tláškal P.: Výživová doporučení pro obyvatelstvo České republiky, Výživa a potraviny 2012, 67: 80-82, <http://www.vyzivaspol.cz/rubrika-dokumenty/konecne-zneni-vyzivovych-doporuceni.html>, citace 8.8.2013
2. <http://fnic.nal.usda.gov/dietary-guidance/dietary-guidelines>, citace 8.8.2013
3. <http://www.nasyceneskodi.cz/>, citace 8.8.2013
4. Brát J., Dostálová J., Pokorný J. Výživová doporučení pro příjem lipidů a jejich plnění v České republice, Výživa a potraviny 2005; 60: 156-157
5. <http://www.vimcojim.cz/cs/odbornik/>, citace 8.8.2013

R 9**HOW TO CONFIRM YOUR MAYONNAISE IS A REAL MAYONNAISE?**

Hoos P.

Unilever R&D Vlaardingen, The Netherlands

Abstract

Foods legislation in the European countries consists of a complex set of European Community laws and national requirements. Protocols for label information are often based on local laws whereas authenticity and protected names are mentioned in the EU code of practice (Codex Alimentarius). Mayonnaise is a protected name with clear requirements being specified in a code of practice [1]. A key factor in a real mayonnaise is the presence of egg yolk. During the lecture the egg yolk determination in mayonnaise will be used as an example how to select suitable analytical methods and appropriate commercial food laboratories.

Mayonnaise is described as an emulsified sauce with potable water, vinegar, edible vegetable oil, hens' egg yolk and some optional ingredients. The target levels of oil and egg yolk, including analytical guidelines with references to methods or articles to be used for their analysis, are set by the individual EU countries. The oil level determination is currently still based on gravimetric analysis after solvent extraction with petroleum ether and/or diethyl ether. To determine the egg yolk content in mayonnaise typical markers like Cholesterol and Phospholipids should be selected. A common reference method for Phospholipids is a "classic" solvent extraction followed by precipitation and weighing [4]. For the Cholesterol determination typical methods mentioned are referring to Thin Layer Chromatography (TLC) separation or prescribe packed column Gas Chromatography (GC) chromatography. These laborious "classical" analytical methods are becoming rare within the analytical laboratories in Europe! New methods are developed for phospholipids based on quantitative ³¹P-Phosphor- Nuclear Magnetic Resonance (³¹P-NMR) [12, 13], Liquid Chromatography - Evaporative Light Scattering Detector (LC-ELSD)[11,13] or Liquid Chromatography- Inductively Coupled Plasma –Mass Spectrometry/Mass Spectrometry (LC-ICP-MS/MS). The cholesterol methods are mainly based on capillary Gas Chromatography – Flame Ionisation Detection (GC-FID) or Gas Chromatography- Mass Spectroscopy (GC-MS). The main question addressed in the lecture will be the data comparison between the available methods and between data obtained with modern methods versus that of the 'classic' methods. These comparisons clearly indicate that the scope of the method should be checked together with the quality criteria of the data: Could the mayonnaise matrix influence the cholesterol and phospholipids extraction? The majority of the Food laboratories operate according to ISO 17025. This means that samples are analyzed according to a well described, validated method controlled by one or more first line control samples and reference food samples. At least once a year the method will be challenged with a Foods Proficiency Sample. Foods Proficiency Testing is an effective tool for analytical laboratories to compare the analyte levels with those found by other peer-group food laboratories. From this lecture you will get a better understanding of selection procedures of analytical methods and the challenges to obtain reliable quantification of an analyte in your food matrix.

Real mayonnaise is regulated in an EU code of practice (Codex Alimentarius) [1] with a minimum level on fat and egg yolk content. Within the majority of the EU countries the minimum levels are set on 70 % fat and 5% egg yolk. The Czech Republic prescribes fat levels in the range between 10 – 85 % and for egg yolk a minimum content of 2%. Fat content is part of the mandatory label information for foods. Internationally accepted methods are broadly available and are available within the majority of the external laboratories in the EU including many laboratories that are ISO 17025 accredited for label related analytical methods [2].

Egg yolk is a natural composition of water, fat (≈26.5%), proteins (≈16%), carbohydrates (≈3.6%), cholesterol, phospholipids, vitamins and minerals. Egg yolk content in mayonnaise can only be measured indirectly via markers like Cholesterol and/or Phospholipids. Protein content in

mayonnaise is mainly from egg and egg yolk and could be used as a general marker for known and internal QC samples. Conversion of the marker levels, e.g. cholesterol levels, to egg yolk contents requires values on the typical levels of these markers in egg yolk. Such information is available from Food product databases. Such databases are organized by the individual EU countries (EuroFIR.com). Their content is often a combination of “shared” data between countries and country-entered datasets. A real challenge is to extract and verify the source as well as determine the typical compositional ranges of the mentioned markers in the products and ingredients. If conversion factors are used for the egg yolk content, the source and reference value(s) used should be mentioned in the report. Such information is all too often unfortunately absent. The only exception being the USDA food database that does give clear reference to properties and analytical methods used (AOAC).

Food databases example for the egg yolk markers:

	Prot. %	Chol. mg/kg	Phospholipids
BLS – Germany	16.2	1260	Not available
Foods Comp. - Czech	15.9	1281	Not available
USDA – US	15.5	1075	Not available

Oil and Fats are compositionally very well described and harmonized analytical methods and protocols are available from organizations like AOCS, AOAC, FAO [2] and more international organizations. Eggs are compositionally well characterised but due to the natural complexity and variation, methods are not fully harmonized and knowledge on egg analysis is fragmented between scientific articles and harmonization organizations.

The analytical approaches can be divided into three groups:

1. “Classical approach”: Characteristic property analysis methods using extraction, gravimetry, colorimetry, titration, physical measurements, analogue equipment and more ...
2. “Separation approach”: Separation and quantification methods with TLC, GC, LC, SDS-PAGE and more ...
3. “Confirmation approach”: Separation, identification and quantification methods with GC-MS, LC-MS, ³¹P-NMR [11] and more...

For the fat content analysis the “classical approach” is still mainly used within the analytical laboratories all over the world. For protein containing food products like mayonnaise the sample should first be hydrolysed with HCl followed by Soxhlet extraction and gravimetric determination. Reference methods are ISO 1443 [9], ISO 17189 [8] and AOAC 991.36 [6]. For difficult food ingredients/products an all-in-one system with a Mojonnier tube for sample treatment is preferred to avoid losses of fatty components like the phospholipids. A relative new and fast QC technique is the Microwave-TD-NMR method for moisture and fat content.

Cholesterol is the most straight forward marker in mayonnaise for egg yolk. Cholesterol is one specific molecule that can be analysed according to the “Separation approach”. Mayonnaise should be sampled with an “open tube” with plunger or plastic pipette without tip. Take 250 – 350 mg sample for the approx. 90 minutes saponification, followed with 3 times extraction and finally silylation and analysis by GC-FID. References methods are AOAC method 994.10 [3] and JAOAC 97 (1993) 902-906 [7].

Pitfalls for the GC-FID methods in our experience with the majority of “issues” showing lower cholesterol levels:

Mayonnaise intake 250 – 350 mg with pipette top and bottom duplicate

Area ratio cholesterol: internal standard not higher than 1:5

GC and Column condition (double peaks, peak shape and fouling)

Blanc sample impurities in procedure contributing as area around 5 α -Cholestane and Cholesterol peak.

Comparison Saponification and extraction procedure

	Unilever	AOAC	JAOAC
Boiling time saponification (min.)	90	~70	30
Extractions non-saponifiables	3	2	1

On lab scale three mayonnaise batches of 5 kg were produced for a cholesterol GC-FID comparison test between our external laboratory in The Netherlands (reference) and two laboratories in The Czech Republic. Sample 1 and 2 were our Hellmann's mayonnaise for the Czech market. Sample 3 is an EU mayonnaise with more than 70% fat and more than 5% egg yolk in the recipe. In figure 1, cholesterol levels in mayonnaise reported with data with- and without given pre-information to the external laboratories is presented. The "October" sample series is sent to our reference laboratory and two laboratories in the Czech Republic. The same samples from the "November" series are sent to the same laboratories but now with additional tips and tricks and a references to AOAC 994.10 [3] method. In the December series a new laboratory was included because a laboratory closed their facility in the Czech Republic. A general learning is that the cholesterol analytical procedure together with matrix information and tips and tricks about real mayonnaise will increase the cholesterol levels. Especially the -cholesterol levels of sample 1 and 2 from the November series approach the values from the reference laboratory. For sample 3, a real mayonnaise with more than 70% fat and more than 5% egg yolk, the cholesterol levels found by our reference laboratory and the informed laboratories still deviate much from comparable cholesterol GC-FID validations reported in literature. A detailed exchange of analytical details should be considered together with a certified reference material with a difficult fatty and protein matrix. Butter is a suitable reference material (for instance MUVA Kempten) with a certified cholesterol level including a confidence interval to align the cholesterol procedures.

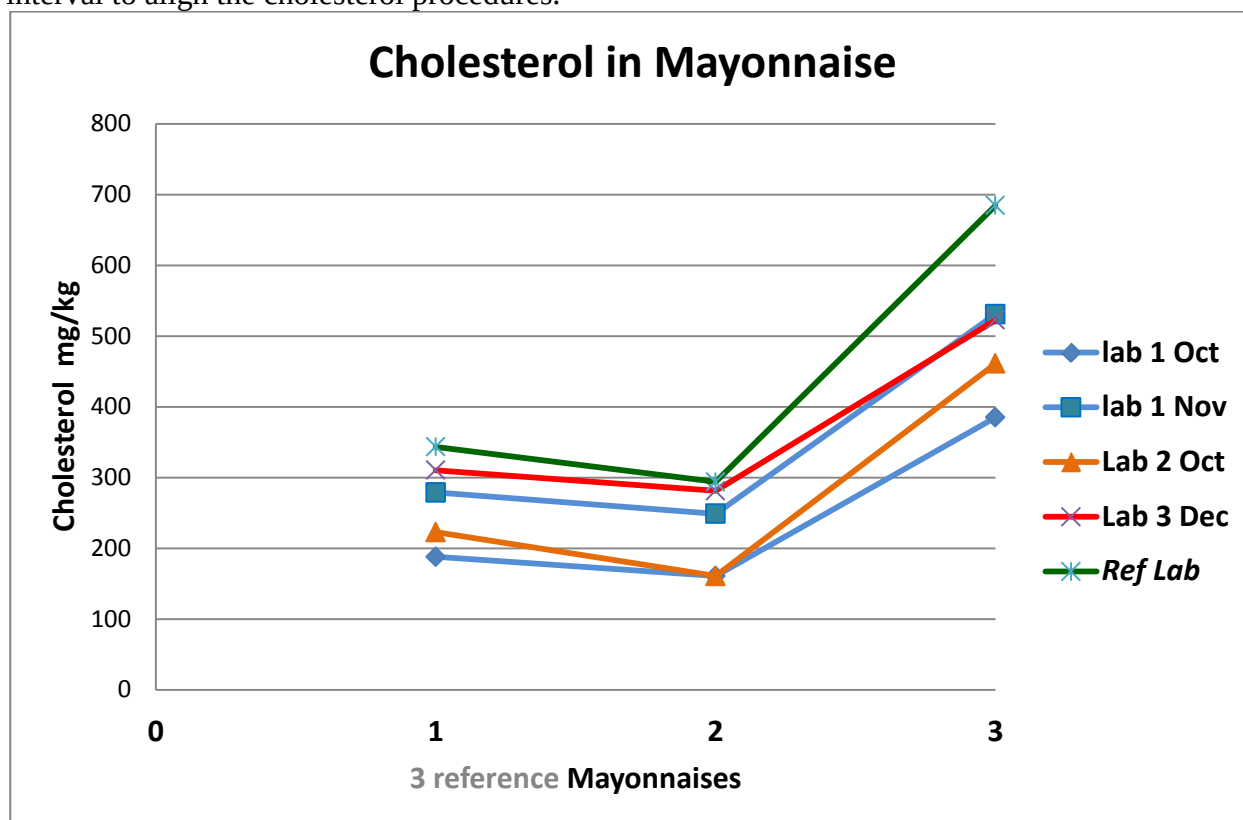


Figure 1. Cholesterol in mayonnaise analysed with and without pre-information by external laboratories.

Phospholipids are the second and more complex markers for egg yolk quantification in mayonnaise. The complexity is caused by the different extraction properties for the molecules in the group of Phospholipids. Still the most commonly used approach is a “Classical approach” consisting of a Liquid/liquid extraction and wet ashing followed by molybdate reaction P2O5. A reference method like the AOAC 923.07 (first published in 1923!) [4] followed by AOAC 964.06 [10] or ICP-OES [5] is commonly used to determine the phosphor content followed by a conversion factor of 24.9 to calculate the phospholipids content. A more improved extraction method is described in “Estimating of lipoid-P2O5 (egg yolk) in salad dressing and mayonnaise; a new method of isolation for phospholipoid” by A.C. Germs “De Ware(n)-chemicus 9 (1979 23-26) Library Wageningen UR. Critical Control Points with the “Classic approach” are the error sensitive manual steps, the average conversion factor and emulsion formation during extractions resulting in a poor recovery.

With the “Confirmation approach” the phospholipids composition and quantification can be performed with techniques like LC-ICP-MS/MS, LC-MS or ^{31}P -NMR [12, 13]. Numerous publications describing these methods are available on scientific websites. Internationally harmonized analytical procedures for phospholipids in food products are still not available from the international harmonization organizations. The liquid/liquid single phase extraction to obtain the phospholipids extract is still the major hurdle due to the emulsion forming during extraction. A summation of errors should be considered resulting from the Limit of Quantification for low level available phospholipids in egg yolk together with an unfavourable extraction equilibrium due to the presence of high oil level. New exotic monophasic extractions are developed with mixtures of triethylamine, dimethylformamide and guanidium Cl [12]. Tips and Tricks for single phase extraction is to check the extraction recoveries and the influence of especially the middle protein layer on the phosphor content with an extra extraction step. For ^{31}P -NMR after single phase CDCl_3 extraction 4 - 5 g mayonnaise and 1 g egg yolk is recommended as sample intake for optimal extraction quantities. The total phosphor quantity in egg yolk and mayonnaise can be used to confirm the egg yolk content in mayonnaise.

Building true partnerships with the external laboratories performing the analysis is advisable to exchange the product information and build experience with the product matrix. Unilever R&D Vlaardingen is located in the Netherlands. Our partner laboratories are situated in the Netherlands and in the neighbouring countries. For cholesterol two ISO 17025 accredited labs, SGS Foods and Eurofins, could be selected to perform the analysis. SGS Foods (NL, DE) use GC-FID according to the following method description: after addition of 5α Cholestane the sample is saponified with KOH. The anhydrous extract is silylated with BSFTA and measured (Accreditation DAKkS method SOP M 1605 2008-11). Eurofins WEJ-Analytik (NL, DE) use GC-FID with a slightly different method description: after mixing internal standard substance dehydrocholesterol with the sample, a decomposition with heat or with heat and potassium hydroxide (samples with starch) is performed. The anhydrous extract is cleaned by column chromatography, silylated with MSHFBA and measured. Accreditation DAKkS: DIN EN ISO/IEC 17025:2005 D-PL-14251-01-00.

Phospholipid content and composition in food matrix, mayonnaise and egg yolk can be analysed at Spectral Service GmbH (DE). ^{31}P -NMR single phase extraction CDCl_3 / MeOH / H_2O -EDTA is used for the phospholipids composition and quantification. Spectral Service GmbH (DE) is GMP- and GLP-certified and approved by the US FDA.

The definition of Real Mayonnaise is regulated per country on total fat content and egg yolk content. For fat quantification many options are available. Hydrolysis with HCl should be performed to denature the proteins and liberate the enclosed fat for Soxhlet or Majonnier extraction. Cholesterol is the most straight forward egg yolk marker in mayonnaise. Unfortunately, due to the mayonnaise matrix, it is still difficult to analyse with GC-FID. Butter is a suitable cholesterol reference material with a difficult fatty and protein matrix to align the analytical procedures of different laboratories. Phospholipids can also be used as egg yolk markers but due to difficulties in the extraction as a result of the strong emulsifying properties of the molecules in combination with the mayonnaise matrix, their analysis is even more challenging than with cholesterol. Phospholipids

are still mainly analysed according to the “Classical approach” with a single phase extraction, wet ashing followed by molybdate reaction with P_2O_5 . For the quantification and confirmation ^{31}P -NMR with single phase extraction is a more obvious analytical technique to use for phospholipids quantification in mayonnaise. To conclude, Real Mayonnaise is a difficult analytical matrix. Detailed information about composition and analytical details should be exchanged between laboratories to obtain the best comparable compositional data!

Literature

1. Codex Stan 168-1989 Codex for Mayonnaise (Regional European Standard)
2. FAO CODEX STAN 234-1999^{*1} Recommended Methods of Analysis and Sampling.
- ^{*1} The most updated version of the method should be used, in application of ISO/IEC 17025: 1999. The present list of methods reflects the amendments adopted by the 30th Session of the Codex Alimentarius Commission in 2007
3. AOAC Official Method 994.10, Cholesterol in Foods, Direct Saponification—Gas Chromatographic Method, First Action 1994.
4. AOAC Official Method 923.07, Lipids and Lipid phosphorus (P_2O_5) in eggs, Wet Ashing Method, First
5. AOAC Official Method 985.01, Metals and other Elements in Plants and Pet Food, Inductively Coupled Plasma (ICP) Spectroscopic Method, First Action 1985, Final Action 1988.
6. AOAC Official Method 991.36, Fat (Crude) in Meat and Meat Products, Solvent Extraction Method, First Action 1991, Final Action 1996.
7. Rapid Determination of Cholesterol in Single and Multicomponent Prepared Foods, Journal of AOAC Vol. 76 No.4, 1993.
8. ISO 17189, Butter, edible oil emulsions and spreadable fats - Determination of fat content (Reference method), First edition 2003-09-15.
9. ISO 1443 Meat and meat products, Determination of total fat content, April 1992.
10. AOAC Official Method 964.06 Phosphorus in Animal Feed Alkalimetric Ammonium Molybdophosphate Method First Action 1964 Final Action.
11. ISO 1043:2008 Animal and vegetable fats and oils — Determination of phospholipids in lecithins by HPLC using a light scattering detector.
12. ^{31}P NMR spectroscopy in food analysis A. Spyros *, P. Dais, Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy 54 (2009) 195–207
13. Phospholipids in Milk Fat: Composition, Biological and Technological Significance, and Analytical Strategies Giovanna Contarini * and Milena Povolo, Int. J. Mol. Sci. 2013, 14, 2808-2831

R 10**SLOŽENÍ MASTNÝCH KYSELIN TUKU V MÜSLI TYČINKÁCH A JEHO NUTRIČNÍ HODNOCENÍ**

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

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

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, především na kardiovaskulární onemocnění, v případě dlouhodobé a nadměrné konzumace i *trans*-nenasycené mastné kyseliny (TFA). Produkce a použití částečně ztužených rostlinných tuků, které jsou jejich významným zdrojem, se sice v posledních letech silně snižuje, nicméně stále se lze na trhu setkat s výrobky do kterých jsou aplikovány, např. v některých produktech jemného a trvanlivého pečiva, náhražkách čokolády nebo polevách. Limit tolerovaného příjmu je 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 v müsli tyčinkách, které konzumenti pokládají za „zdravé“ potraviny. Obsah tuku se u celkem 21 analyzovaných vzorků pohyboval v rozmezí 6 – 40 %. Kvalita tuku byla velmi rozdílná, o čemž svědčí i rozpětí podílu SAFA 17,5 – 87,7 %. U 11 vzorků byly nalezeny vyšší hladiny TFA (2,4–30,7 %).

Úvod

Max Oskar Bircher-Benner, narozený v Aarau ve Švýcarsku, byl průkopníkem celostní medicíny vycházející z tvrzení, že „všechno souvisí se vším“ - tělo, mysl, mezilidské vztahy, potrava, prostředí. Základem léčebných kúr v jeho sanatoriu byla zdravá strava. Pokud člověk nejí kvalitní potraviny, tím měl na mysli ovoce, zeleninu a cereálie, postupem času se to projeví na jeho zdravotním stavu. Byl zakladatelem jídla složeného z obilných vloček a sušených ovocných plodů, nám známého jako müsli.

Tato práce je součástí monitoringu složení mastných kyselin a postihuje sortiment müsli tyčinek běžně dostupných na českém trhu. V potravě by tuky měly tvořit 30 až 35 % energetického příjmu [1-2]. Nasycených mastných kyselin (SAFA) 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 (TFA), které se stále ještě vyskytují ve větším množství v různých produktech jemného a trvanlivého pečiva, náhražkách čokolády, některých polevách nebo sušených sójových nápojích [3-5]. Relativně malé množství může v případech pravidelné konzumace vést k trvalému překračování tolerovaného příjmu TFA (max. 1% z celkového energetického příjmu).

Experimentální část

Bylo analyzováno celkem 31 vzorků tuku polev tyčinek a müsli tyčinek a 21 vzorků celkového tuku tyčinek a müsli tyčinek zakoupených v běžné tržní síti v r. 2012 (tabulka 1 a 2). Zastoupení mastných kyselin bylo stanoveno po jejich esterifikaci na methylestery methanolovým roztokem hydroxidu sodného. Analýzy methylesterů mastných kyselin plynovou chromatografií byly provedeny na přístroji Agilent 6890 Plus (Palo Alto, USA) vybaveném 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.

Tabulka 1 Charakteristika výrobků hodnocených podle tuku polevy

Vz. č.	Označení výrobku	Název a charakteristika výrobku
1	Simply Nut brusinka & mandle v jogurtové polevě	Tyčinka s mandlemi a brusinkami, máčená v jogurtové polevě
2	Simply Nut brusinka & mandle	Tyčinka s mandlemi a brusinkami, máčená v kakaové polevě
3	Twiggy – švestka	Müsli tyčinka v jogurtové polevě
4	Corny BIG Dark Chocolate	Cereální tyčinka v hořké čokoládě
5	Breakfast Bar ostružina	Cereální tyčinka s ostružinovou náplní v kakaové polevě
6	Albert Müsli oříško-karamelová	Müsli tyčinka s lískovými oříšky s příchutí karamelu a tmavou polevou
7	Albert Müsli jogurt + malina	Müsli tyčinka s chutí malin a polevou s jogurtovou příchutí
8	Corny Chocolate	Cereální tyčinka čokoládová
9	Corny jahoda – jogurt	Cereální tyčinka jahodová v jogurtové polevě 18 %
10	Fly Müsli – borůvka	Müsli tyčinka s borůvkami polomáčená v jogurtové polevě
11	Fly Müsli – banán	Müsli tyčinka banánová polomáčená v kakaové polevě
12	Maxi Nuta s konopným semínkem	MAXI NUTA ořechová tyčinka s konopným semínkem a medem, máčená v kakaové polevě
13	Nestlé Fitness 23,5 g	Cereální tyčinka s hořkou čokoládou
14	Müsli Crip Crop cranberries + raspberries with yoghurt 30 g	Müsli tyčinka s brusinkami a malinami v jogurtové polevě
15	Müsli Crip Crop Chocolate 25 g	Müsli tyčinka čokoládová s kakaovou polevou
16	Dobrá vláknina BONA VITA brusinka/višeň v jogurtu 25 g	Tyčinka Dobrá vláknina s brusinkami, višněmi a jogurtovou polevou
17	Dobrá vláknina BONA VITA mandle v kakaové polevě 25 g	Tyčinka Dobrá vláknina s mandlemi a kakaovou polevou
18	Müsli v jogurte višňová 30 g	Višňová cereální tyčinka v jogurtové polevě
19	FirstNice Müsli bar nuts and choco 30 g	Müsli tyčinka s ořechy polomáčená v tmavé kakaové polevě
20	FirstNice Müsli bar cranberries and raspberries in yoghurt 35 g	Müsli tyčinka s brusinkami a malinami v jogurtové polevě
21	Maxi Nuta pistácie & brusinky	MAXI NUTA ořechová tyčinka s pistáciemi, brusinkami a medem, polomáčená v jogurtové polevě
22	Probiotic Line švestka 35 g	Müsli tyčinka švestková s jogurtovou polevou a probiotickými kulturami
23	Fit fruitík Pomeranč v čokoládě 30 g	Tyčinka s chutí pomeranče polévaná tmavou polevou hořkou
24	Fit fruitík limeta v jogurtu 30 g	Tyčinka s chutí limety polévaná polevou s jogurtovou příchutí
25	Jelly JUICY Cereal Bar 40 g	Cereální tyčinka s pomerančovým želé v mléčné polevě
26	Fit müsli višňová v jogurtu	Müsli tyčinka s chutí višně a polevou s jogurtovou příchutí
27	Fit müsli banánová v polevě 30 g	Müsli tyčinka s chutí banánů a tmavou polevou
28	Juicy Bar 40 g	Cereální tyčinka s citronovo-limetkovým želé v jogurtové polevě
29	Cereo müsli tyčinka s meruňkami v jogurtové polevě 35 g	Müsli tyčinka s meruňkami v jogurtové polevě
30	Cereo müsli tyčinka s kousky pomeranče 35 g	Müsli tyčinka s kousky pomeranče polomáčená v kakaové polevě
31	Sirius Müsli 25 g	Müsli tyčinka s ml. čokoládou a banánovou ovocnou složkou

Tabulka 2 Charakteristika výrobků hodnocených podle celkového tuku

Vz. č.	Označení výrobku	Název a charakteristika výrobku
1	Go rybíz + jogurt	Müsli tyčinka s chutí rybízu a polevou s jogurtovou příchutí
2	Cereo müsli tyčinka s kousky višňí v jogurtové polevě	Müsli tyčinka s kousky višňí v jogurtové polevě
3	Cereo müsli tyčinka s kousky malin	Müsli tyčinka s kousky malin
4	Fit fruit limeta	Müsli tyčinka s chutí limety
5	Müsli v jogurtě meruňková	Meruňková cereální tyčinka v jogurtové polevě
6	Twiggy müsli tyčinka v jogurtové polevě	Müsli tyčinka s jahodami v jogurtové polevě
7	Fit müsli brusinková	Müsli tyčinka s brusinkami
8	Müsli bar orange in yogurt	Müsli tyčinka s pomerančovými kousky v jogurtové polevě
9	Bio müsli jablko	Bio müsli tyčinka s jablky
10	Swissi müsli tyčinka classic	CLASSIC brusinkovo-malinová müsli tyčinka
11	Cereal bar challenger	Cereální tyčinka s čokoládou
12	Nestlé musli	Müsli tyčinka
13	Dobrá vláknina Bona Vita	Tyčinka Dobrá vláknina s jablky a skořicí
14	Jelly Juicy cereal bar	Cereální tyčinka s pomerančovým želé v mléčné polevě
15	Peggy XXL	Oříšková tyčinka s pistáciemi polomáčená v kakaové polevě
16	Simply nut	Tyčinka s arašidy a příchutí limety máčená v kakaové polevě
17	Maxi nuta pistácie a brusinka	Maxi nuta s pistáciemi, brusinkami a jogurtovou polevou
18	Breakfast bar bona vita	Cereální tyčinky s ostružinovou náplní v kakaové polevě
19	TIP Müsli meruňka	Müsli TIP Extrudovaný výrobek
20	SIRIUS	Müsli tyčinka s mléčnou čokoládou a banánovou složkou
21	Musli tyčinka jogurt	Musli tyčinka s meruňkami a polevou jogurtovou příchutí

Tabulka 3 Složení mastných kyselin v polevách tyčinek (%)

Vz. č.	TFA	SAFA	MUFA	PUFA
1	3,97	81,00	11,94	3,09
2	31,79	39,89	25,49	2,83
3	35,98	39,92	22,51	1,59
4	0,08	62,47	33,36	4,09
5	2,56	87,46	8,75	1,23
6	36,05	38,60	23,70	1,65
7	37,17	39,49	22,04	1,30
8	0,43	64,00	32,26	3,31
9	0,48	81,60	14,89	3,03
10	0,13	97,47	1,72	0,68
11	1,07	89,88	7,01	2,04
12	0,53	77,81	16,08	5,58
13	0,04	63,50	33,00	3,46
14	0,12	97,10	2,08	0,70
15	0,40	84,62	13,09	1,89
16	0,18	95,80	2,85	1,17
17	1,23	88,34	7,93	2,50
18	2,71	92,17	3,85	1,27
19	40,80	40,52	17,21	1,47
20	38,32	38,17	22,04	1,47
21	0,10	91,91	6,07	1,92
22	0,30	90,96	6,86	1,88
23	34,91	37,41	24,74	2,94
24	37,81	36,62	22,68	2,89

Tabulka 3 – pokračování				
Vz. č.	TFA	SAFA	MUFA	PUFA
25	1,38	90,35	5,48	2,79
26	37,58	38,49	22,46	1,47
27	37,49	35,90	25,34	1,27
28	2,36	91,64	4,33	1,67
29	37,59	39,99	21,27	1,15
30	32,50	47,15	19,32	1,03
31	0,36	63,55	32,41	3,68

MUFA- monoenové mastné kyseliny, PUFA – polyenové mastné kyseliny

Tabulka 4 Obsah tuku a složení mastných kyselin v tuku tyčinek (%)

Vz. č.	Tuk (% hm.)	TFA	SAFA	MUFA	PUFA
1	13	30,55	41,61	24,05	3,76
2	15	27,93	40,92	25,46	5,69
3	9	6,89	41,90	32,60	18,61
4	11	0,86	24,08	36,57	38,49
5	17	0,28	87,64	7,74	4,31
6	17	24,68	44,67	24,19	6,46
7	7	8,44	43,17	33,15	15,22
8	13	30,70	41,33	24,82	3,15
9	9	2,43	40,05	43,03	14,48
10	6	0,89	34,63	40,98	23,50
11	16	1,80	60,54	21,53	16,13
12	7	0,39	32,82	40,56	26,23
13	8	0,34	32,76	51,74	15,16
14	14	0,65	59,75	21,64	17,95
15	39	7,81	22,56	46,53	23,10
16	40	3,58	17,50	65,12	13,80
17	24	0,35	49,22	36,68	13,74
18	20	3,34	84,12	10,81	1,73
19	6	0,74	46,76	37,82	14,68
20	14	0,30	65,00	27,99	6,71
21	16	26,35	43,25	26,67	3,73

Výsledky a diskuze

Ač jsou müsli tyčinky mnohdy chápány jako zdravé potraviny, složení mastných kyselin tuku v analyzovaných výrobcích tomu příliš nenasvědčuje. V rámci monitoringu bylo analyzováno celkem 31 kakaových, čokoládových a jogurtových polev na tyčinkách, z nichž většina obsahovala cereální složku a byla označena jako müsli. Další tyčinky obsahovaly cukernou složku (glukózový nebo glukózo-fruktózový sirup), ořechy a ovocnou složku. Právě polevy mohou být zdrojem zdraví škodlivých TFA a SAFA. U 15 vzorků byla v tuku polev dominantní laurová kyselina. U 11 tyčinek se její obsah pohyboval nad hranicí 40 %. Obsah myristové kyseliny byl v rozmezí 0,1 – 20,0 % a palmitové kyseliny v rozmezí 7,9 – 31,2 %. TFA, zastoupené především polohovými isomery *trans*-oktadecenových kyselin s převažující elaidovou kyselinou, přesahovaly u 12 vzorků 30 % (viz Tabulka 3).

V dalším monitoringu bylo analyzováno celkem 21 müsli, cereálních a oříškových tyčinek s polevou i bez polevy. Obsah tuku se pohyboval v širokém rozmezí 6 až 40 % hm. K dominantním

SAFA patřily laurová (0,2-44,9 %, u šesti vzorků nad 10 %), myristová (0,3-17,3 %, u dvou vzorků nad 10 %) a palmitová (9,0-38,6 %). TFA, zastoupené opět polohovými isomery *trans*-oktadecenových kyselin s převažující elaidovou kyselinou, přesahovaly u 5 vzorků 20 % (viz Tabulka 4).

Závěr

Výsledky ukázaly velký rozdíl v kvalitě tukové složky cereálních, oříškových a müsli tyčinek. I když výrobci obecně ustupují od používání částečně hydrogenovaných rostlinných tuků s obsahem TFA, v tyčinkách je podíl výrobků s TFA vysoký (u 5 výrobků z 21 přesahovalo jejich zastoupení 20 % ze všech MK), ještě horší situace byla u polev tyčinek (u 12 výrobků z 31 přesahovalo jejich zastoupení 30 %). U dalších výrobků je rizikovým faktorem vzniku kardiovaskulárních onemocnění vysoký obsah středně dlouhých SAFA pocházejících zejména z kokosového, palmového a palmojádrového tuku. Na druhou stranu část vzorků, zejména bez polev, měla dobrou skladbu MK, včetně významného podílu nutričně žádoucích PUFA.

Poděkování

Tato práce byla realizována za podpory projektu MSM6046137305.

Literatura

- [1] Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, *trans* fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal* [Online] **2010**, <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1461.htm> (28.6.2013).
- [2] Dostálová, J., Dlouhý, P., Tláškal, P.: Výživová doporučení pro obyvatelstvo České republiky. Společnost pro výživu. **2012** [Online] <http://www.vyzivapol.cz/rubrika-dokumenty/konecne-zneni-vyzivovych-doporuceni.html> (28.6.2013).
- [3] Doležal, M., Dostálová, J.: Obsah a složení tuku mražených krémů, trvanlivého pečiva a cukrovinek na českém trhu. V časopise *Výživa a potraviny* **2009**, 64, 59 – 61.
- [4] Dostálová, J., Brát, J., Hanzlík P.: Složení mastných kyselin tuku čokoládových pochoutek a pomazánek, ledových čokolád a různých druhů polev. V časopise *Výživa a potraviny* **2005**, 60 (5), 124 – 125.
- [5] Dostálová, J., Šípková, A.: Sójové nápoje. V časopise *Výživa a potraviny* **2011**, 66, 121 – 122.

R 11**NÁHRADY TUKŮ V TECHNOLOGII TRVANLIVÝCH MASNÝCH VÝROBKŮ**

Saláková A., Pavlík Z., Kameník J.

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

Abstrakt

Spotřebitelé si oblíbili trvanlivé masné výrobky ze dvou hlavních důvodů. Tím prvním je jejich trvanlivost. Druhým důvodem jsou jejich senzorycké vlastnosti. Senzorické vlastnosti trvanlivých masných výrobků určují jejich hodnotu, jsou výrazem jejich kvality a zkušeností výrobců. Při nákupu zákazník hodnotí především barvu trvanlivých masných výrobků, jejich texturu, při konzumaci aroma a chuť a v současné době přihlíží také k obsahu tuku. V ČR definuje Vyhláška č. 326/2001 Sb. ve znění pozdějších předpisů limit obsahu tuku ve vybraných trvanlivých salámech na hodnotu 50 %. Vepřové sádlo, jeho kvalita a obsah, má vliv na strukturu trvanlivých salámů. Snížením obsahu vepřového sádla do díla se mohou měnit kvalitativní vlastnosti hotových salámů. Jako náhradu vepřového sádla lze použít například tukovou náhradu na bázi alginátu. V závislosti na nahrazeném množství vepřového sádla je důležité sledovat senzorycké a jakostní parametry hotových salámů, aby nedošlo ke změně charakteru výrobku.

Klíčová slova: obsah tuku, vepřové sádlo, alginát, rýže

Úvod

Trvanlivé masné výrobky rozdělujeme podle Vyhlášky č. 326/2001 Sb. v platném znění na dvě skupiny – trvanlivé fermentované masné výrobky a trvanlivé tepelně opracované masné výrobky. Pro obě skupiny platí, že hodnota aktivity vody (a_w) je ve finálním výrobku maximálně 0,93 a minimální doba trvanlivosti dosahuje 21 dní při teplotě skladování 20 °C. Trvanlivé fermentované masné výrobky jsou výrobky tepelně neopracované určené k přímé spotřebě, trvanlivé tepelně opracované masné výrobky jsou produkty, u kterých bylo ve všech částech dosaženo minimálně tepelného účinku odpovídajícího působení teploty 70 °C po dobu 10 minut (Vyhláška č. 326/2001 Sb.). Trvanlivé masné výrobky se připravují ze syrového masa a tukové tkáně.

Vepřové sádlo má rozhodující roli při vytváření struktury výrobku ve fázi mělnění a míchání, má být jadrné, tuhé a proto se pro výrobu využívá hřbetní sádlo a sádlo z krční části (hřivka). Podíl polyenových masných kyselin z celkového obsahu masných kyselin má být 12 % (Kameník, 2010). V trvanlivých masných výrobcích obsažený tuk dále ovlivňuje chuť, texturu, šťavnatost a celkový vjem při skusu výrobku. Jakékoliv snížení obsahu tuku ve výrobku může mít tedy za následek zhoršení senzorycké jakosti a odmítnutí konzumentem (Muguerza et al., 2002). Tradiční fermentované masné výrobky obsahují až 50 % tuku (Jiménez-Colmenero, 2000) a jeho náhrada je složitější než u ostatních typů masných výrobků, neboť tuk je zde nositelem senzoryckých vlastností a také ovlivňuje technologické vlastnosti (Wirth, 1988). V ČR definuje Vyhláška č. 326/2001 Sb. ve znění pozdějších předpisů limit obsahu tuku ve vybraných trvanlivých salámech (Poličan, Vysočina) na hodnotu 50 %.

Trvanlivé fermentované salámy, které jsou vyrobeny s nižším obsahem tuku, vykazují vzhledové vady, jsou tvrdé z důvodu vysokých procentuálních ztrát hmotnosti (Muguerza et al., 2002). Vepřové sádlo v technologii trvanlivých masných výrobků můžeme nahradit některými rostlinnými oleji – olivový olej, sójový olej, lněný olej, slunečnicový olej (Mora-Gallego et al., 2013), čímž změníme složení mastných kyselin ve finálním produktu.

Další možností pro snížení obsahu tuku je použití restrukturalizovaného sádla, kdy část sádla je nahrazena přípravkem na bázi alginátu sodného. Alginát sodný je sodná sůl kyseliny alginové, která se získává z hnědých řas. Používá se především jako stabilizátor, zahušťovadlo a želírující látka. Ruiz-Capillas et al. (2012) testovali ve své práci nahrazení tuku za pomoci konjakové gumy.

Senzorické vlastnosti trvanlivých masných výrobků se sníženým obsahem tuku lze ovlivnit přidavkem vlákniny nebo sojové bílkoviny, jejich použití ale není možné v souladu s českou legislativou (Vyhláška č. 326/2001 Sb.).

Cílem této práce bylo testovat možnosti snížení obsahu tuku a jeho nahrazení v technologii trvanlivých masných výrobků.

Materiál a metodika

1. Obsah mastných kyselin v syrovém sádle a trvanlivém fermentovaném salámu po 21 dnech zrání

Byly vyrobeny celkem tři dávky (134 kg/dávka) trvanlivého fermentovaného salámu (TFS) lišící se druhem použitého sádla (krční, hřbetní, z kýty). Základní receptura byla složena z masa prasnic (plece a krk) v množství 77 kg, hovězího libového 13 kg a vepřového sádla 38 kg/1 dávku. K dílu byla ve fázi mělnění přidána směs koření se sacharidy, startovací kultura a dusitanová solící směs. Dílo bylo zpracováno na zrno velikosti 1 – 2 mm a plněno do obalových střev o průměru 75 mm. Doba zrání byla 21. dní. Podrobnosti v práci Kameník et al. (2013).

2. Obohacení trvanlivých masných výrobků o n-3 mastné kyseliny

V technologické dílně Ústavu hygieny a technologie masa VFU Brno byly vyrobeny vzorky trvanlivého fermentovaného salámu Poličan a trvanlivého fermentovaného salámu Vysočina. Byla vyrobena kontrolní skupina salámů, dále skupina obohacená o n-3 mastné kyseliny a skupina obohacená o n-3 mastné kyseliny a rozmarýnový extrakt. Podrobnosti v práci Pavlík et al. (2013).

3. Snížení obsahu tuku ve finálním produktu trvanlivých fermentovaných masných výrobků

V technologické dílně Ústavu hygieny a technologie masa VFU Brno byly vyrobeny vzorky trvanlivého fermentovaného salámu Poličan (vepřové maso, hovězí maso, vepřové sádlo) s obsahem tuku 45 % a 35 % v hotovém výrobku, dále byla upravena receptura pro salámy typu „fit“ se sníženým obsahem tuku. Doba zrání byla 21 dní.

4. Nahrazení části vepřového sádla tukovou náhradou na bázi alginátu

V technologické dílně Ústavu hygieny a technologie masa VFU Brno byly vyrobeny vzorky trvanlivého fermentovaného salámu. Kontrolní skupina vzorků byla vyrobena podle klasické receptury, která obsahuje 1/3 vepřového hřbetního sádla. U pokusné skupiny vzorků byla místo poloviny dílu vepřového sádla přidána tuková náhrada. Náhrada tuku byla připravena z komerčně vyráběného preparátu (směs se zamíchá v kutru s šupinovým ledem a následně se přidá vepřové sádlo v podílu 1:1, po důkladném zamíchání se celá směs zamrazí a při výrobě díla salámu se přidává společně s vepřovým sádlem). Nahrazena ¼ vepřového sádla.

5. Nahrazení vepřového sádla v receptuře trvanlivého fermentovaného salámu vařenou rýží

V technologické dílně Ústavu hygieny a technologie masa VFU Brno byly vyrobeny vzorky trvanlivého fermentovaného salámu. Obsah vepřového sádla v receptuře masného výrobku byl nahrazen vařenou rýží.

Obsah tuku byl stanoven na přístroji SOXTEC (Tecator, Švédsko). Jako extrakční činidlo byl použit diethylether. Obsah mastných kyselin (MK) stanoven podle (Kameník et al., 2013; Pavlík et al., 2013). V tabulkách jsou uvedeny průměrné hodnoty.

Výsledky a diskuze

Tabulka č. 1: Podíl MK ve vepřovém sádle a TFS v % (Kameník et al., 2013)

Vepřové sádlo	krční	hřbetní	kýta
SFA	42.79	42.25	41.16
MUFA	48.71	49.56	51.43
PUFA	8.50	8.19	7.41
Salám po 21 dnech			
SFA	40.11	40.46	38.36
MUFA	50.81	51.22	53.00
PUFA	9.08	8.31	8.64

V tabulce č. 1 jsou uvedeny výsledky obsahu mastných kyselin v syrovém vepřovém sádle pocházejícím ze třech částí jatečně upraveného těla prasat. Nejnižší podíl nenasycených mastných kyselin je u sádla z kýty. Nevyšší podíl nasycených MK (SFA) byl zjištěn v krčním sádle, následuje sádlo hřbetní a nejnižší koncentraci vykazovalo sádlo z kýty. Naopak nejvíce monoenoových MK (MUFA) obsahovalo sádlo z kýty, potom hřbetní sádlo a nejméně sádlo krční. Obsah polyenoových MK (PUFA) byl nejvyšší v krčním sádle a nejnižší v sádle z kýty. V tabulce dále vidíme podíl mastných kyselin v salámu po 21 dnech zrání.

U vzorků salámu Poličan (Tabulka č. 2) nedošlo po přidání přípravku s nenasycenými mastnými kyselinami k významnému zvýšení procentuelního zastoupení MUFA. Mírně se u těchto vzorků zvyšuje zastoupení PUFA a dochází k snížení poměru n-6/n-3 nenasycených kyselin. Teprve po přidání rozmarýnového extraktu dochází k významnému zvýšení zastoupení MUFA a více než dvojnásobnému navýšení hodnot PUFA. U vzorků salámu Vysočina dochází po přidání přípravku nenasycených mastných kyselin k zvýšení zastoupení MUFA i PUFA a k mírnému poklesu poměru n-6/n-3 nenasycených kyselin.

Tabulka č. 2: Obsah mastných kyselin v obohacených trvanlivých masných výrobcích o n-3 mastné kyseliny v % (Pavlík et al., 2013)

	Poličan kontrola (P1)	Poličan n-3 (P2)	Poličan n-3 + antioxidant (P3)
SFA [%]	65.15	65.10	50.10
MUFA [%]	31.55	31.10	43.55
PUFA [%]	3.05	3.70	6.70
n-6/n-3	9.17	6.40	8.00

	Vysočina kontrola (V1)	Vysočina n-3 (V2)	Vysočina n-3 + antioxidant (V3)
SFA [%]	63.30	56.60	55.40
MUFA [%]	35.20	39.35	40.70
PUFA [%]	1.20	4.25	4.20
n-6/n-3	11.00	7.50	9.50

V tabulce č. 3 jsou uvedeny obsahy tuků v trvanlivém masném výrobku s obsahem tuku v hotovém výrobku 45 % (klasická receptura), s obsahem tuku v hotovém výrobku 35 % (snížený obsah tuku) a salámů, které jsme pracovně nazvali „fit“, kde bylo upraveno složení receptury, jehož výsledkem byly salámy s nižším obsahem tuku. Úpravou receptury jsme dosáhli snížení tuku o 17 – 21 % v hotovém výrobku v porovnání s klasickou recepturou (45 % tuku).

Tabulka č. 3: Snížení obsahu tuku v receptuře TFMV v průběhu zrání

	Obsah tuku (%)			
dny/předpokládaný obsah tuku	0.	7.	14.	21.
45 %	30	39	40	45
35 %	22	26	29	33
Fit I	13	20	24	24
Fit II	20	22	28	28

Při použití tukové náhrady na bázi alginátu byl obsah tuku u hotových výrobků nižší o téměř 8-12 %. Žádný ze senzorických hodnotitelů neoznačil výrobek s náhradou tuku za senzoricky

nepřijatelný, podobně jako popisuje Garcia-Garcia and Totosaus, (2008). Použitá tuková náhrada je pro senzorické hodnotitele k nerozeznání od vepřového sádla.

Tabulka č. 4: Obsah tuku ve TFMV s tukovou náhradou 25 % v receptuře – alginát sodný

dny zrání	Obsah tuku (%)			
	0.	7.	14.	21.
kontrola	30	38	40	46
alginát sodný 1	22	30	36	38
alginát sodný 2	22	28	33	36
alginát sodný 3	22	28	32	34

Po nahrazení vepřového sádla vařenou rýží byl obsah tuku ve výrobku na konci procesu zrání (2,5-10 %). Struktura výrobku byla podobná klasickému výrobku (45 % tuku), výrobek byl 4-5 x tužší v porovnání s kontrolním vzorkem, měl vyšší hodnotu pH a senzoricky byl nepřijatelný. V současné době dále testujeme využití rýže jako náhrady sádla a věříme, že výrobek bude senzoricky přijatelný.

Poděkování

Příspěvek byl zpracován s podporou institucionálního výzkumu VFU Brno.

Literatura

- Garcia-Garcia E., Totosaus A. (2008) Low-fat sodium-reduced sausages: Effect of the interaction between locust bean gum, potato starch and k-carrageenan by a mixture design approach. *Meat Science*, 78, 406 – 413.
- Jiménez-Colmenero, F. (2000) Relevant factors in strategies for fat reduction in meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 7, 41 – 48.
- Kameník, J. (2010) *Trvanlivé masné výrobky*, VFU Brno, 262s.
- Kameník, J., Steinhauserová, P., Saláková, A., Pavlík, Z., Bořilová, G., Steinhauser, L., Ruprich, J. (2013) The influence of various pork fat types on the ripening and characteristics of dry fermented sausage, *Czech Journal of Food Sciences*, in press.
- Mora-Gallego, H., Serra, X., Guàrdia, M.D., Miklos, R., Lametsch, R., Arnau, J. (2013) Effect of the type of fat on the physicochemical, instrumental and sensory characteristics of reduced fat non-acid fermented sausages. *Meat Science*, 93, 668 – 674.
- Muguerza E., Fista G., Ansorena D., Astiasarán I., Bloukas J.G. (2002) Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 61, 397–404.
- Pavlík, Z., Saláková, A., Kameník, J., Pospíšil, J., Králová, M., Steinhauserová, I. (2013) Effect of micro-encapsulated n-3 fatty acids on quality properties of dry sausages. *Acta Veterinaria Brno* (v oponentním řízení)
- Vyhláška MZe č. 326/2001 Sb. v platném znění. Sbírka zákonů 2001, part 126, p. 7414.
- Weiss J., Gibis M., Schul V., Salminen H. (2010) Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Science*, 86, 196 – 213.
- Wirth F. (1988) Technologies for making fat-reduced meat products. *Fleischwirtschaft*, 68 1153 – 1156.

R 12**ANALYTICKÉ PARAMETRY HODNOCENÍ JAKOSTI MASNÝCH VÝROBKŮ**

Ševčík R., Pohůnek V., Pivoňka J., Kvasnička, F., Rajchl A., Voldřich M.

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

Pro hodnocení jakosti masných výrobků mohou sloužit dva parametry vycházející z obsahu bílkovin. Jedná se o obsah čistých svalových bílkovin a obsah masa. Obsah čistých svalových bílkovin se vypočte jako obsah celkových bílkovin bez bílkovin pojivové tkáně. Maso jako složka masných výrobků odpovídá definici kosterní svaloviny s přirozeně obsaženou nebo přilehlou tukovou a pojivovou tkání. Analytické stanovení obsahu masa v masných výrobcích je založeno na stanovení obsahu dusíku v masném výrobku a následném odečtení všech nebílkovinných zdrojů. Při výpočtu se musí počítat i s maximálním „povoleným“ obsahem tuku a pojivové tkáně. Obě metody se díky používání širokého spektra přídatných látek obsahujících cizí bílkoviny musejí neustále rozvíjet. Cílem práce je zhodnotit možné úskalí analytické metody a výpočty stanovení obsahu čistých svalových bílkovin a masa v masných výrobcích.

Stanovení obsahu čistých svalových bílkovin

Stanovení svalové bílkoviny nepřímou metodou. Obsah svalových bílkovin se získá odečtením obsahu bílkovin pojivové tkáně (kolagenu) od obsahu celkových čistých bílkovin stanovených metodou dle Kjeldahla. Vzorky byly připraveny jednak po srážení taninem a bez srážení taninem. Vysrážením bílkovin taninem a následnou filtrací se odstraní dusíkaté látky nebílkovinné povahy (např. amoniak). Ve sraženině na filtru se stanoví bílkoviny podle Kjeldahla. Vždy se provádí slepé stanovení.

Stanovení čistých celkových bílkovin metodou podle Kjeldahla

Obsah celkových bílkovin se vypočítá z celkového dusíku zjištěného metodou Kjeldahla, jehož procentový obsah se přepočítá na bílkovinu vynásobením empirickým faktorem 6,25. Hodnota faktoru byla odvozena z poznatku, že 1 g živočišné bílkoviny obsahuje průměrně 160 mg dusíku. Po vysrážení čistých bílkovin vzorku a jejich oddělení se tyto mineralizují varem v kyselině sírové za přítomnosti katalyzátoru. Bílkoviny přítomné ve vzorku se převedou na síran amonný, z něhož se v alkalickém prostředí uvolní amoniak, předestiluje se s vodní párou a stanoví titračně.

Stanovení kolagenu

Pro kolagen je charakteristickou aminokyselinou 4-hydroxyprolin, jenž se kromě elastinu v jiných živočišných bílkovinách prakticky nevyskytuje. Proto je podle jeho obsahu možno usuzovat na množství přítomného kolagenu. Spektrofotometrické stanovení 4-hydroxyprolinu je v praxi metoda nejvíce použitelná. Postupuje se tak, že po hydrolýze vzorku nebo po hydrolýze, které předchází extrakce etanolem se 4-hydroxyprolin oxiduje chloraminem-T. Oxidovaný produkt se stanovuje spektrofotometricky při 558 nm po reakci s p-dimethylaminobenzaldehydem a po vynásobení zjištěného obsahu faktorem 8,0 se získá obsah kolagenu.

Výpočty:

Obsah kolagenu se vypočte dle následující rovnice:

$$\text{Obsah kolagenu [\%]} = \text{obsah 4-hydroxyprolinu [\%]} \times 8,00$$

Obsah svalových bílkovin se vypočítá podle následující rovnice:

$$\text{Obsah svalových bílkovin [\%]} = \text{obsah celkových bílkovin [\%]} - \text{obsah kolagenu [\%]}$$

Výsledek se uvádí s přesností na jedno desetinné místo.

Stanovení čisté svalové bílkoviny v masných výrobcích přes vázaný 3-methylhistidin

V kyselém hydrolyzátu zbytku po extrakci vzorku 80% etanolem se zjistí koncentrace 3-methylhistidinu (3-MeHis) vázaného ve svalových bílkovinách aktinu a myosinu a obsah čistých svalových bílkovin (ČSB) se počítá z empirického vztahu:

Obsah ČSB (g/100 g vzorku) = obsah 3-MeHis (mg/100 g vzorku)

Výsledky:

Malokarpatská saláma:

Metoda	VZ1	VZ2	VZ3
Bez srážení	15,0	17,1	14,4
Se srážením	12,8	14,1	12,1
Metoda přes 3-MeHis	9,5	9,3	9,3

Spišské párky

Metoda	VZ1	VZ2	VZ3
Bez srážení	10,4	9,8	9,8
Se srážením	8,9	8,6	8,6
Metoda přes 3-MeHis	8,1	8,2	8,5

Vysočina

Metoda	VZ1	VZ2	VZ3
Bez srážení	12,3	13,1	10,8
Se srážením	11,2	11,5	9,6
Metoda přes 3-MeHis	9,5	11,2	8,1

Z výsledků je patrné, že je nutné pro stanovení obsahu čistých svalových bílkovin používat srážení bílkovin s taninem, tak, abys odstranil balastní látky, které mohou navyšovat množství obsahu čistých svalových bílkovin. V případě porovnání metody přes 3-MeHis je nutné prověřit větší množství vzorků a ověřit způsob výpočtu čistých svalových bílkovin, aby bylo možno touto metodou nahradit nepřímou metodu stanovení, která může být ovlivňována přídavkem cizích rostlinných a živočišných bílkovin.

Stanovení obsahu masa

Postup jak správně stanovit obsah masa a tuku u masných výrobků je definován v nařízení komise (ES) č. 2004/2002 ze dne 8. listopadu 2002 o postupu určování obsahu masa a tuku v některých výrobcích z vepřového masa. Obsah masa se stanoví jako součet odtučněného masa a tuku pocházejícího z masa.

$$\text{obsah masa (\%)} = \text{DM} + \text{F}$$

$$\text{DM} = (\text{NT} - \text{Nx}) / f \times 100$$

DM obsah odtučněného masa (%)

F obsah tuku celkem (%)

NT celkový obsah dusíku stanovený analýzou (% hmotnostní)

Nx dusík nepocházející z masa (% hmotnostní)

F průměrný obsah dusíku (% hmotnostní) v libovém mase, které výrobek obsahuje; hodnota tohoto činitele je:

3,5 u kýty a jejích částí

3,35 u plece a jejích částí

3,35 u ostatních produktů z vepřového masa

3,65 u hovězí maso

3,50 u skopového maso

3,50 u kuřecího masa

Pro účely úprav hodnoty dusíku nepocházejícího z masa (N_x) je třeba znát množství každé složky obsahující dusík a obsah dusíku v těchto složkách (Tab. 2). Při vlastním výpočtu se nesmí zapomenout korigovat hodnoty pro maximální obsah tuku a pojivových tkání dle tabulky č.1.

Tabulka č. 2: Obsah dusíku v několika složkách nepocházejících z masa, které obsahují dusík a mohou se vyskytovat v masných výrobcích

Nemasná složka masných výrobků	% dusíku
Kasein	15,8
Kaseinát sodný	14,8
Izolát sojové bílkoviny	14,5
Sója se změněnou texturou	8,0
Sojová mouka	8,0
Glutaman sodný (MSG)	8,3
Sacharidy	2,0
Hovězí játra	2,7
Hovězí jazyk	3,0

Příklad výpočtu:

Pro fermentovaný salám byly naměřeny následující analytické parametry: Obsah tuku: 45,57 %, obsah bílkovin: 19,88 %, obsah hydroxyprolinu: 0,434 %, vlhkost výrobku 27,65 %, obsah popela 4,41 %

Obsah sacharidů v mase

$$CHO = 100 - M - F - A - P$$

$$CHO = 2,49 \%$$

CHO – Obsah sacharidů dopočtem

M – obsah vody, F – Celkový obsah tuku

P – Celkový obsah bílkovin ($N \cdot 6,25$), A – Obsah popela

Obsah dusíku v mase

$$N_M = N - N_R$$

$$N_M = 3,131 \%$$

N_M obsah dusíku v mase

Ncelkový obsah dusíku dle Kjeldahla $N = 19,88/6,25$

$$N = 3,1808 \%$$

N_Robsah dusíku ze sacharidů

$$N_R = CHO \cdot 0,02$$

$$N_R = 0,0498 \%$$

Obsah pojivové tkáně

$$CT = \frac{(C \cdot 100)}{(N_M \cdot 6,25)}$$

$$CT = \frac{(3,472 \cdot 100)}{(3,1808 \cdot 6,25)}$$

$$CT = 17,74\%$$

nebyl překročen limit, který je dán legislativou (25 %)

CT.....obsah pojivové tkáně

C.....obsah kolagenu

Obsah tukuprostého masa

$$DFM = \frac{N_M}{f} * 100$$

$$DFM = \frac{3,131}{3,5} * 100$$

$$DFM = 89,45\%$$

DFM.....tukuprosté maso, f.....faktor pro vepřovou kýtu, f = 3,5

Obsah povoleného tuku

$$F_{povolený} = \frac{DFM * F_{max}}{100 - F_{max}}$$

$$F_{povolený} = \frac{89,45 * 30}{100 - 30}$$

$$F_{povolený} = 38,34\%$$

F_{povolený}..obsah povoleného tuku v mase, F_{max}...dán legislativou (pro vepřové maso 30%)

Obsah masa

$$MC = DFM + F$$

$$MC = 89,45 + 38,34$$

$$MC = 127,79 \%$$

MC.....obsah masa

DFM.....obsah tukuprostého masa

F.... obsah tuku v mase (naměřené či F_{povolený})

Z postupu výpočtu obsahu masa je patrné, že princip výpočtu sebou nese celou řadu úskalí. Jedním z nich je stanovení cizího dusíku nepocházejícího ze složek masa. Pro toto stanovení je nutné znát alespoň přibližné složení masného výrobku. (přidatné látky, cizí bílkoviny).

Poděkování

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.20/2013) a MZe QI91B283.

Použitá a doporučená literatura

1. SMĚRNICE KOMISE 2001/101/ES ze dne 26. listopadu 2001, kterou se mění směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/13/ES o sblížení právních předpisů členských států týkajících se označování potravin, jejich obchodní úpravy a související reklamy.
2. Pipek, P.: Technologie masa (kapitola 4. 6. a 4.7.) Stručný přehled vlastností masa, způsobů získávání, dělení a zpracování na masné výrobky. In.: Kadlec, P. et al.: Principy potravinářských technologií 1.ed. VŠCHT Praha 2002. 536 s. ISBN 80-7080-510-2.
3. NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 2004/2002 ze dne 8. listopadu 2002 o postupu určování obsahu masa a tuku v některých výrobcích z vepřového masa.
4. Kvasnička, F. Voldřich M. a kol.: Sborník metodik vypracovaný v rámci řešení projektu č. EP9179 Metody pro posuzování shody a detekci falšování potravin, 2004.
5. VYHLÁŠKA 326/2001 Sb. Vyhláška Ministerstva zemědělství, kterou se provádí §18 písm. a), d), g), h), i) a j) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů, pro maso, masné výrobky, ryby, ostatní vodní živočichy a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich.
6. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení směrnice Komise 87/250/EHS, směrnice Rady 90/496/EHS, směrnice Komise 1999/10/ES, směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/13/ES, směrnic Komise 2002/67/ES a 2008/5/ES a nařízení Komise (ES) č. 608/2004.

R 13**ZMĚNY CHEMICKÉHO STAVU FOSFORU A STOPOVÝCH PRVKŮ V POTRAVINÁCH VYVOLANÉ TRÁVENÍM**

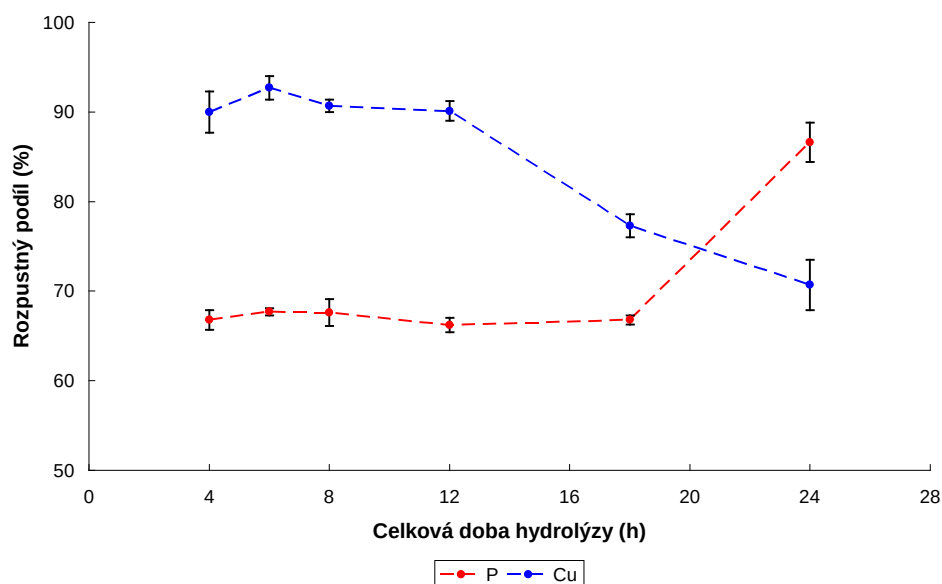
Koplík R., Revenco D., Mestek O.

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

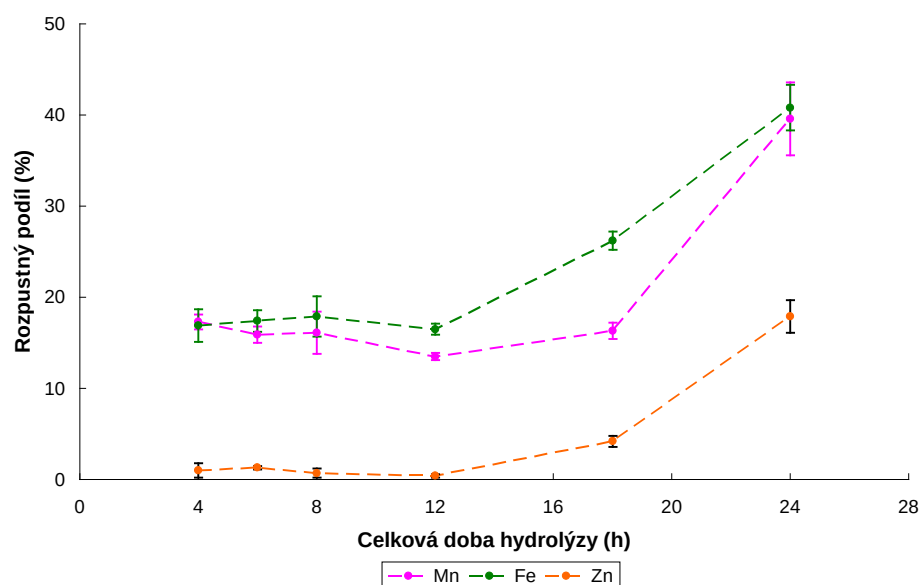
Minerální látky se v potravinách vyskytují v mnoha chemických formách, které závisejí na chemické povaze prvku a na jeho možných vazebných partnerech v prostředí potraviny.¹ Zastoupení chemických forem prvků (tzv. speciace prvků)² v potravinách a stravě do jisté míry ovlivňuje biologickou dostupnost esenciálních prvků a míru druh škodlivých účinků toxických prvků. Nicméně skutečná účinnost absorpce minerálních látek z potravy silně závisí na individuálních biologických faktorech, jako jsou pohlaví a věk konzumenta, okamžitá zásoba prvku v organismu a předchozí výživa. Kromě toho ovlivňuje biologickou využitelnost prvků i zastoupení chemických forem prvků (speciace) a zastoupení hlavních živin, vlákniny, inhibitorů a aktivátorů absorpce prvku.³ U majoritních a stopových prvků kovového charakteru bývá obvykle jejich biologická využitelnost z potravin rostlinného původu nižší, než z potravin živočišného původu.

Pro odhad biologické dostupnosti některých prvků lze vycházet z výsledků speciální analýzy, tj. diferencovaného stanovení jednotlivých forem prvků nebo jeho frakcí.³ Vzhledem k labilitě některých forem (zejména komplexů kovových prvků) dochází k podstatným změnám chemického stavu prvku v procesu trávení potravy, kdy je potrava vystavena působení hydrolytických enzymů, a to v rozdílném pH prostředí.⁴ Speciální frakcionaci některých prvků lze zčásti postihnout analýzou gelovou permeační chromatografií ve spojení s hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (SEC-ICP-MS).⁵⁻⁷ Kromě distribuce prvku mezi jednotlivé frakce komplexů a kovalentních sloučenin prvků o různé molekulové hmotnosti lze také určit na základě hmotnostní bilance velikost frakce „volných“ iontů resp. labilních komplexů. Tyto analýzy lze provádět s extrakty potravin nebo s jejich hydrolyzáty, které se získají enzymovou hydrolýzou za simulovaných gastrointestinálních podmínek.

Pro naše experimenty se surovinami rostlinného původu a od nich odvozenými pokrmami jsme vzorky k analýze připravovali jednak extrakcí tlumivým roztokem (0,02M Tris-HCl, pH=7,5), jednak enzymovou hydrolýzou za simulovaných gastrointestinálních podmínek. Postup zahrnuje (1) gastrickou fázi, při které je vzorek hydrolyzován pepsinem v prostředí 0,02M HCl, a (2) intestinální fázi, kdy na vzorek působí směs pankreatických enzymů v mírně alkalickém prostředí. Oba stupně hydrolýzy probíhají při teplotě 37 °C s použitím preparátů prasečích digestivních enzymů. Po gastrické fázi následuje ochlazení a úprava pH suspenze na hodnotu 7,5. Tyto podmínky v zásadě odpovídají v literatuře uváděným parametrům enzymové digesce simulující průběh trávení v těle dospělého člověka.⁸⁻⁹ Hlavním faktorem, který ovlivňuje rozpustnost složek vzorku a míru chemických změn minerálních látek při hydrolýze, je v těchto experimentech doba inkubace při prvním a druhém stupni hydrolýzy. S testovacím vzorkem celozrnné pšeničné mouky známého prvkového složení byla provedena řada experimentů s různou dobou inkubace (2+2 h, 3+3 h, 4+4 h, 6+6 h, 9+9 h a 12+12 h) a byl stanoven rozpustný podíl prvků. Výsledky pro vybrané prvky znázorňují obrázky 1 a 2.

**Obr. 1**

Závislost rozpustného podílu fosforu a mědi v hydrolyzátu pšeničné mouky na době hydrolýzy

**Obr. 2**

Závislost rozpustného podílu manganu, železa a zinku v hydrolyzátu pšeničné mouky na době hydrolýzy

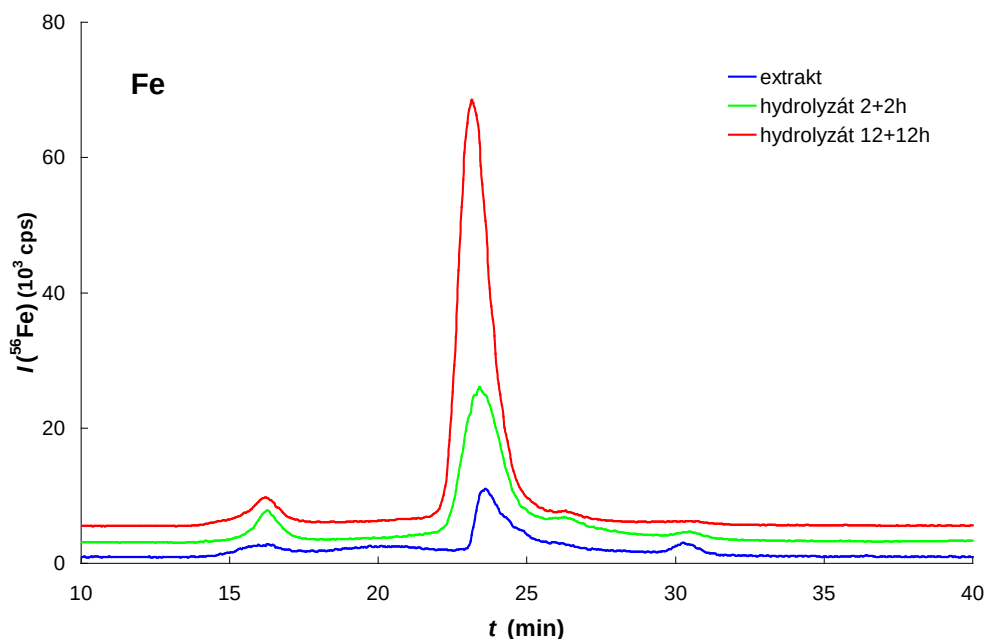
I když je přirozené očekávat, že u jednotlivých prvků s prodlužující se dobou hydrolýzy poroste velikost rozpustného podílu monotónně, tento předpoklad byl splněn pouze u fosforu a zinku. U většiny prvků závislost prochází lokálními maximem (Fe, Co, Ni, Mo), popřípadě minimem (Mn, Fe). Draslík je zcela solubilizován již krátkou hydrolýzou a rozpustnost se již dále nemění. U fosforu je rozpustný podíl ve variantách 2+2 h až 9+9 h prakticky konstantní (cca 67 %), a teprve ve variantě 12+12 h dochází k nárůstu na cca 87 %. U zinku se počáteční rozpustný podíl (cca 1 %) nezvýšil ani ve variantě 6+6 h; k mírnému zvýšení (na cca 4 %) došlo ve variantě 9+9 h a k dalšímu (již podstatnému) zvýšení ve variantě 12+12 h. Je sice známo, že biologická využitelnost zinku z celozrnných cereálních materiálů je malá¹⁰, není však natolik malá, jak by odpovídalo

rozpustnému podílu zinku po krátké hydrolýze (2+2 h až 6+6 h). Biologická využitelnost zinku z potravin rostlinného původu je obvykle dávana do souvislosti s působením kyseliny fytové.¹¹ Z chování fosforu by bylo možné vyvozovat určité vysvětlení: při krátké hydrolýze (2+2 h až 6+6 h) do roztoku přechází menší podíl kyseliny fytové, která tak zůstává v nerozpustném zbytku vázána se zinkem. Dlouhá hydrolýza (12+12 h) rozpouští zřetelně více fosforu, snad i ve formě kyseliny fytové, a uvolňuje tak část původně fixovaného zinku do roztoku. Podobné předpoklady lze vyslovit i pro vápník a hořčík, jejichž rozpustný podíl se na konci časové řady rovněž výrazně zvyšuje.

Kolísavá velikost rozpustného podílu při měnící se délce hydrolýzy nebo dokonce pokles na konci časové řady je důsledkem dvou protikladných procesů: (1) štěpení biomakromolekul přítomnými digestivními enzymy, které spolu s účinkem zvýšené koncentrace vodíkových iontů v gastrické fázi hydrolýzy vede k uvolňování kovových iontů z vazby na matici, a (2) precipitačních reakcí probíhajících v alkalickém prostředí mezi kovovými ionty a ionty hydroxidovými, hydrogenuhlíčitanovými, fosforečnanovými, případně fytátovými. Důsledkem precipitace je např. pokles rozpustného podílu mědi na konci časové řady.

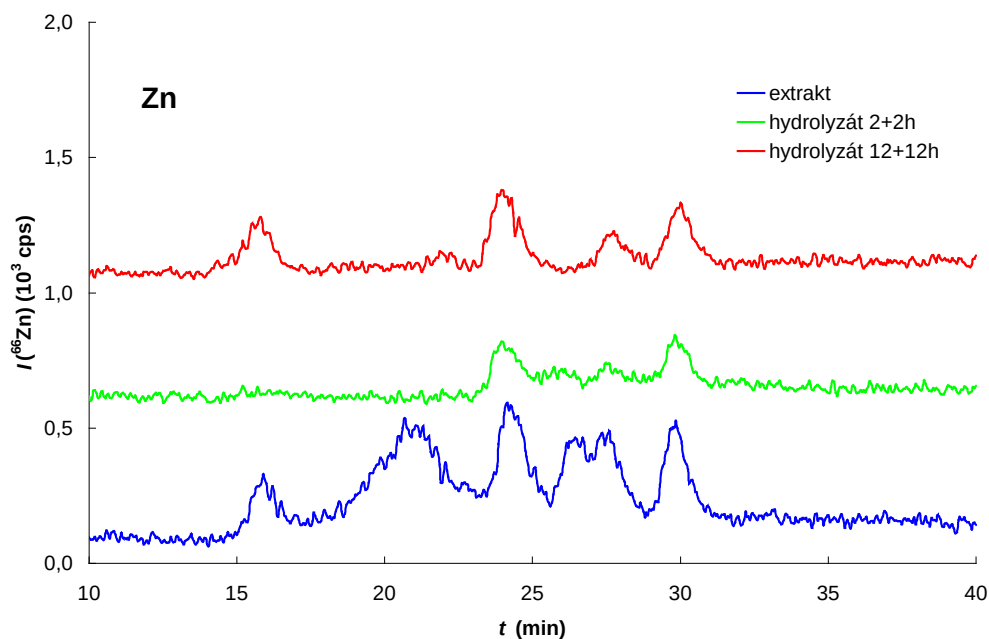
Frakcionace specií jednotlivých prvků v extraktech a hydrolyzátech pšeničné mouky byla analyzována metodou SEC-ICP-MS. Po kvantifikaci prvků v chromatografických frakcích byly vypočteny celkové hmotnosti prvků ve frakcích prošlých kolonou. Tyto hodnoty byly konfrontovány s celkovými hmotnostmi prvku v nástřiku extraktu nebo hydrolyzátu a byly vypočteny hodnoty chromatografických výtěžností pro jednotlivé prvky. Chromatografická výtěžnost zřetelně menší než 100 % indikuje, že část prvku je zachycena materiálem kolony. Tato část odpovídá součtu obsahu iontových forem prvku (u kovů např. hydratované ionty Fe^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} apod.) a obsahu labilních komplexů, které disociují během analýzy. Naopak ta část obsahu prvku, která projde kolonou v intervalu mrtvého a celkového objemu, odpovídá stabilním komplexům nebo stabilním kovalentním sloučeninám prvku. Frakce těchto sloučenin jsou viditelné v příslušných chromatogramech (viz obrázky 3-5).

Chromatogram sloučenin železa (obrázek 3) obsahuje v extraktu tři zřetelné frakce: vysokomolekulární (>150 kDa), středněmolekulární (cca 12 kDa) s nejvyšším obsahem železa a nízkomolekulární (cca 0,5 kDa). Chromatografická výtěžnost je však pouze asi 50 %. Proces hydrolýzy, zvláště dlouhé, solubilizuje více železa, které prochází gelovou kolonou téměř bez zádrže (výtěžnost je cca 90 a cca 100 % pro krátkou a dlouhou hydrolýzu). Hlavní frakcí je středněmolekulární frakce (13-14 kDa), která zřejmě není zcela totožná se středněmolekulární frakcí v extraktu. Tato středněmolekulární frakce se jen zčásti překrývá s hlavní frakcí sloučenin fosforu. Navíc hydrolýzou přechází do roztoku také nezanedbatelné množství železa vázaného ve vysokomolekulární frakci. Lze předpokládat, že vysokomolekulární frakce detekované v extraktu i v hydrolyzátech odpovídají fytoferritinu a středněmolekulární frakce odpovídají degradačním produktům fytoferritinu. Převažující výskyt železa v částicích o vyšší molekulové hmotnosti znamená, že v gastrointestinálním traktu je zřejmě pro příjem železa buňkami střevní sliznice přístupná jen malá část (zhruba 5 % odpovídající zastoupení v nízkomolekulární frakci).

**Obr. 3**

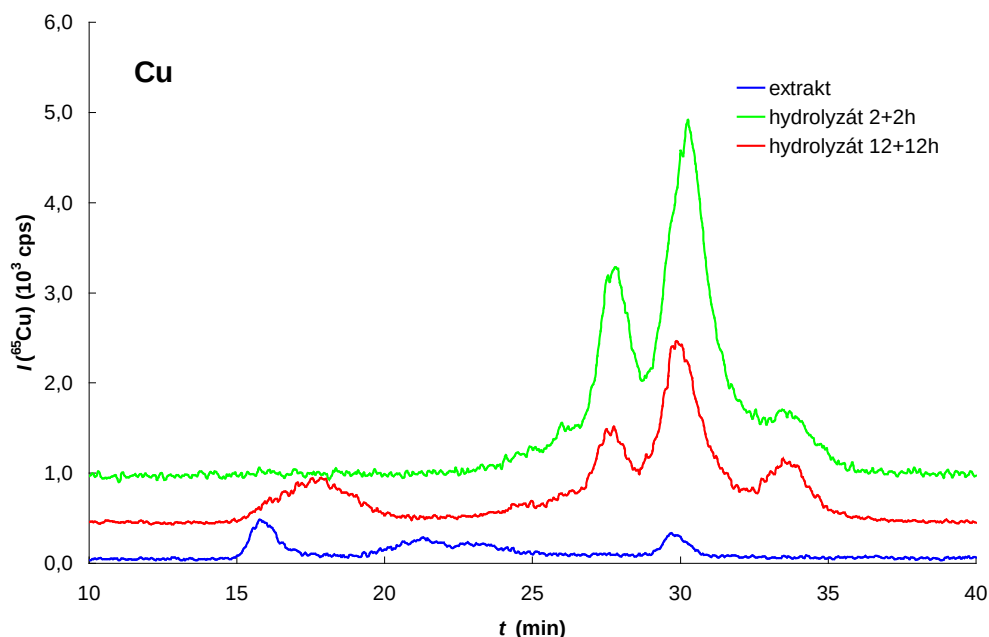
Eluční profil železa v extraktu a v hydrolyzátech celozrnné pšeničné mouky

Pro zinek v extraktech i hydrolyzátech je typický značný podíl anorganické formy, tj. hydratovaných iontů Zn^{2+} , a proměnlivé zastoupení komplexů o různé molekulové hmotnosti. V extraktu pšeničné mouky, který obsahuje jen asi 14 % celkového zinku, se vyskytují asi dvě třetiny zinku ve formě hydratovaných zinečnatých iontů. Zbývající třetinu tvoří komplexy (viz modrá křivka v obr. 4) distribuované v širokém intervalu molekulových hmotností (cca 1 až >150 kDa). Nízkomolekulární frakce sloučenin zinku se kryje s nízkomolekulární frakcí sloučenin mědi a niklu. Hydrolyzát připravený krátkou hydrolyzou (2+2 h) obsahuje jen stopové množství zinku (rozpuštěný podíl činí jen cca 1 %). Frakce zinku viditelné v eluční křivce „krátkého“ hydrolyzátu na obr. 4 (zelená čára) jsou tvořeny převážně zinkem, který nepochází z mouky, ale byl do reakční směsi vnesen pankreatinem obsahujícím metaloenzym karboxypeptidasu. „Dlouhá“ hydrolyza (12+12 h) sice převádí do roztoku podstatně více zinku (cca 18 % z celkového obsahu), z tohoto množství však připadá cca 92 % na hydratované zinečnaté ionty a labilní komplexy. Analogické výsledky byly již dříve popsány u žitných a ovesných vloček.⁴ Mezi detegovanými komplexy zinku, které jsou viditelné na eluční křivce, lze zaznamenat několik frakcí, které zřejmě odpovídají původním frakcím sloučenin zinku v extraktu. Zdá se, že některé rozpustné ligandy se silnou afinitou k zinku takřka nejsou hydrolytickým štěpením účinkem digestivních enzymů dotčeny.

**Obr. 4**

Eluční profil zinku v extraktu a v hydrolyzátech celozrnné pšeničné mouky

Chemické změny mědi jsou složitější. V extraktu je měď přítomna z větší části ve formě hydratovaných iontů Cu^{2+} . Menší část (asi 40 % rozpustné mědi) připadá na stabilní komplexy v širokém rozsahu molekulových hmotností. „Krátká“ hydrolýza solubilizuje asi 90 % celkové mědi (viz obr. 1), přičemž asi 90 % rozpustného podílu představují stabilní nízkomolekulární komplexy (<0,5 až 2 kDa). V hydrolyzátu připraveném „dlouhou“ hydrolýzou (12+12 h) v důsledku precipitace mírně klesá obsah rozpuštěné mědi (na cca 70 % z celkového obsahu) a zůstávají zachovány zmíněné nízkomolekulární komplexy. Navíc se objevuje vysokomolekulární frakce sloučenin mědi. To je způsobeno zřejmě tím, že do roztoku přechází na matrici původně silně fixovaná bílkovina s vysokou afinitou k měďnatým iontům. Posun chemické rovnováhy v roztoku v důsledku precipitace části mědi v nerozpustné formě vyvolává disociaci malého podílu komplexních sloučenin mědi.

**Obr. 5**

Eluční profil mědi v extraktu a v hydrolyzátech celozrnné pšeničné mouky

Fosfor se v extraktu a v hydrolyzátech pšeničné mouky vyskytuje ve třech frakcích. V extraktu je hlavní frakcí sloučenin fosforu frakce nízkomolekulární (1-2 kDa), následuje široká zóna látek o střední molekulové hmotnosti (3-10 kDa) a minoritní vysokomolekulární frakce (>150 kDa). Také v hydrolyzátech je ve vysokomolekulární frakci obsaženo jen malé množství fosforu, přičemž nejvíce fosforu je obsaženo ve středněmolekulární frakci (cca 10 kDa). Nízkomolekulární frakce (1-2 kDa) sloučenin fosforu v hydrolyzátech obsahuje srovnatelné množství fosforu jako odpovídající frakce v extraktu. Celkově je hydrolyzou, zejména dlouhou, solubilizováno 2,5-3,5krát více fosforu ve srovnání s extrakcí, přičemž sloučeniny fosforu procházejí gelovou kolonou bez zadržení (výtěžnost se blíží 100 %). Velká většina rozpustných sloučenin manganu v extraktu a v hydrolyzátech připadá na anorganické formy, tj. hydratované kationty Mn^{2+} . Vyplývá to z velmi malých hodnot chromatografické výtěžnosti (1-2 %). Původní komplexy manganu se složkami mouky jsou tedy ve své velké většině labilní a během přípravy vzorku dochází k jejich rozpadu. Molybden je v mouce přítomen převážně v dobře rozpustné formě. V extraktu i v hydrolyzátech se nachází v jediné nízkomolekulární frakci (2 kDa), která není totožná s nízkomolekulární frakcí komplexů zinku a mědi.

Skutečný chemický stav prvků *in vivo* v natrávené potravě složené převážně z celozrnné pšeničné mouky by se pravděpodobně nacházel mezi stavy, které jsou v této práci simulovány krátkou a dlouhou hydrolyzou. Přitom existuje značný rozdíl mezi těmito stavy v rozpustném podílu a speciaci zinku. Krátká hydrolyza (2+2 h až 6+6 h) téměř žádný zinek z celozrnného cereálního materiálu neuvolňuje, takže nemůže odpovídat fyziologickým podmínkám. U železa lze vzhledem k malému podílu nízkomolekulárních specií v hydrolyzátech (cca 5 %) předpokládat omezenou přístupnost pro absorpci buňkami střevní sliznice. Naproti tomu měď, která se vyskytuje převážně v rozpustných nízkomolekulárních komplexech, by mohla být pro absorpci dobře přístupná.

Literatura

1. Velíšek J.: The Chemistry of Food, Wiley, v tisku
2. Khouzam R.B., Szpunar J., Holeman M., Lobinski R.: Trace element speciation in food: State of the art of analytical techniques and methods. *Pure Appl. Chem.* 84, 169 – 179, 2012.
3. Fairweather-Tait S., Hurrell R.F.: Bioavailability of minerals and trace elements. *Nutr. Res. Rev.* 9, 295-324, 1996.
4. Koplík R., Linková M., Mestek O.: Changes of phosphorus and trace elements species in rye and oat flakes and oat porridge induced by simulated digestion. *Eur. Food Res. Technol.* 232, 1007-1016, 2011.
5. Vacchina V., Polec K., Szpunar J.: Speciation of cadmium in plant tissues by size-exclusion chromatography with ICP-MS detection. *J. Anal. At. Spectrom.* 14, 1557–1566, 1999.
6. Koplík R., Borková M., Mestek O., Komínková J., Suchánek M.: Application of size-exclusion chromatography – inductively coupled plasma mass spectrometry for fractionation of element species in seeds of legumes. *J. Chromatogr. B* 775, 179-187, 2002.
7. Koplík R., Borková M., Bicanová B., Polák J., Mestek O., Komínková J.: Speciation analysis of elements in cereal flours by liquid chromatography – inductively coupled plasma mass spectrometry. *Food Chem.* 99, 158-167, 2006.
8. Crews H.M., Burrell J.A., McWeeny D.J.: Preliminary enzymolysis studies on trace element extractability from food. *J. Sci. Food Agric.* 34, 997-1004, 1983.
9. Crews H.M., Burrell J.A., McWeeny D.J.: Trace element solubility from food following enzymolysis. *Z. Lebens. Unters. Forsch* 180, 221-226, 1985.
10. López de Romaña D., Lönnnerdal B., Brown K. H.: Absorption of zinc from wheat products fortified with iron and either zinc sulfate or zinc oxide. *Amer. J. Clin. Nutr.* 78, 279-283, 2003.
11. Adams C.I., Hambidge M., Raboy V., Dorsch J.A., Sian L., Westcott J.L., Krebs N.F.: Zinc absorption from a low-phytic acid maize. *Am. J. Clin. Nutr.* 76, 556-559, 2002.

Tato práce byla podpořena grantem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky číslo LD 11077 (COST Action FA0905 Mineral-improved crop production for healthy food and feed).

R 14**VÝZNAM PIVA VE VÝŽIVĚ**

Dostálek P.

Ústav biotechnologie, VŠCHT v Praze

Abstrakt

Pivo již historicky plnilo svoji roli zdravotně nezávadného nápoje, který byl současně i velmi ceněnou potravinou. Také dnes se na pivo díváme jako na nápoj významný pro utišení žízně, ale pivo má současně i velmi významnou dietetickou funkci. Hlavními složkami tohoto nápoje jsou sacharidy, bílkoviny, hořké látky, polyfenolové sloučeniny, alkohol, oxid uhličitý, vitamíny a minerální látky. Zdrojem energetické hodnoty piva jsou složky extraktu, především alkohol a sacharidy. Významnou vlastností piva je obsah tzv. měkké vlákniny (beta-glukany, gumovité látky) a pivo vyniká svou tlumivou schopností, vysokým obsahem draslíku a křemíku a stimuluje sekreci trávicích šťáv. Pivo vyniká také snadnou stravitelností a je možné ho řadit mezi tzv. bezezbytkové potraviny.

Vznik piva

Historicky se za kolébku piva ve světě považuje oblast Mezopotámie, kde Sumerové, Arkádové, Babyloňané a Asyřané pěstovali již v 7. tisíciletí př.n.l. obilí a znali již obilné kvašené nápoje. Indoevropské kmeny, které v době stěhování národů ve 4. až 6. století př.n.l. osídlily evropský kontinent (Galové, Helvétové, Keltové, Bójové). K nejnáruživějším pijákům piva patřili Germáni. Slovanské kmeny, které sídlily především v Pobaltí, ve střední a jižní Evropě, znaly a v hojné míře připravovaly různá piva z ječmene, ovsa a pšenice. První zpráva o výrobě piva u nás se váže k Břevnovskému klášteru. 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 převažovala 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. Finální výrobek pivovarského průmyslu - pivo - je nápoj připravený ze sladu, chmele a vody zkvašením kulturními pivovarskými kvasinkami. Slad jako výchozí surovina se vyrábí ve sladovnách ze sladovnického ječmene naklíčením a hvozdním, neboť samotný ječmen neobsahuje dostatek enzymů a aromatických látek potřebných pro výrobu piva. Kromě uvedených surovin se v některých státech z ekonomických důvodů ve větší či menší míře používají náhražky nákladného sladu, např. nesladovaný ječmen, rýže, kukuřice, surová i rafinovaná sacharóza a další.

Složení piva

Pivo je složitý koloidní systém. Jeho organoleptické a dietetické vlastnosti jsou dány jeho složením. Složení pak závisí na použitých surovinách a na technologickém procesu a kolísá v širokém rozmezí. Pivo obsahuje hlavně vodu, alkohol (etanol) a oxid uhličitý. Látky extraktu v pivu můžeme rozdělit na těkavé a netěkavé, případně organické a anorganické. Z plynných látek v pivu je přítomen buď oxid uhličitý, nebo jeho směs s dusíkem, pokud je k dosycení použita směs oxidu uhličitého a dusíku. Kromě toho je v pivu vždy přirozeně přítomen i oxid siřičitý. Množství této látky závisí na typu piva a je hlavně ovlivněno použitým kvasničným kmenem, který je schopen ho tvořit ze síranů. Oxid siřičitý je přirozeným antioxidantem a rovněž vstupuje do reakcí s karbonylovými sloučeninami piva, látkami, které jsou známkou senzorického stárnutí piva. Po reakci jsou tyto látky již senzorycky inaktivní, i když stabilita těchto aduktů také není nejlepší. Kyslík, který je pro pivo nevhodný z hlediska oxidace, můžeme v pivu najít jen okamžitě po stočení, po určité době, kdy zreaguje, jej už nemůžeme detekovat. Z těkavých látek piva jsou v pivě nejvíce obsaženy vyšší alifatické alkoholy a estery (např. 3-methylbutanol, 2-methylbutanol,

2-methylpropanol, propanol a 2-fenylethanol, ethylacetát, methylacetát, ethylformiát, ethylpropionát, ethylbutyrát, ethyllaktát, ethylhexanoát atd.). Dalšími těkavými látkami jsou vicinální diketony, z nichž je nejdůležitější hlavně senzoryicky aktivní diacetyl, aroma nezralého piva. Z aldehydů je v pivu přítomen hlavně acetaldehyd. V pivě jsou ve stopách přítomny transformované látky z chmelových silic. Důležité jsou v nezalkvašeném extraktu piva sacharidy, z nichž dieteticky jsou důležité hlavně dextriny a některé zbytkové (nezalkvašené sacharidy jako glukosa, fruktosa, maltosa a maltotriosa). Pivo obsahuje i měkkou vlákninu, zejména hemicelulosa (beta-glukany). V extraktu piva jsou i bílkovinné látky, které tvoří kostru pěny piva a v pivu jsou přítomné i volné aminokyseliny. Z chmelu jsou v pivě přítomny isohorke látky. Z chmelu a sladu pochází i polyfenolové látky. Ze sladu pocházejí i vitaminy řady B a rovněž většina anorganických látek jako jsou fosfáty, draselné ionty a další makro a stopové prvky.

Pivo a výživa

Pivo se stále více stává předmětem hodnocení v lidské výživě. Zvláště v zemích s vysokou spotřebou piva vyžaduje posouzení vlivu konzumace tohoto nápoje na lidský organismus komplexní a objektivní přístup. Pivo lze doporučit jako vhodné pro výživu z důvodu velkého množství vody a extraktu. Pivo je isotonické až lehce hypotonické. Obsahuje snadno využitelné cukry i pomaleji resorbovatelné dextriny. Sacharidy se podílejí na celkovém energetickém obsahu piva z 30-40%, zbytek je pak podíl alkoholu. Pivo obsahuje velmi malé množství bílkoviny a poměrně značné množství volných aminokyselin. Z minerálů je v pivu obsažen, vápník, hořčík a sodík. Unikátní je velmi vysoký obsah draslíku (až 300 mg/l), fosforu a zejména křemíku. Fosfáty zapříčiňují pufrující účinky piva, takže se někdy o pivo mluví jako o zásaditém, třebaže má pH 4,3-4,5. Křemík ve formě ortokřemičité kyseliny je v pivu v takovém množství, že pivo je jeho nejbohatším dietetickým zdrojem. V této formě je křemík velmi dobře vstřebatelný. Křemík je vyvazovačem hliníku, což bychom mohli považovat za preventivní účinek vůči propuknutí Alzheimerovy choroby a zároveň působí i proti dekalifikaci kostí a tím i proti osteoporóze. Pivo obsahuje i významné množství vitaminů B-komplexu. Pozitivní účinek mají i kvasinky u nefiltrovaných piv. V těchto pivech je obsah vitaminů řady B až desetkrát vyšší. Alkohol v pivu má, kromě svého energetického obsahu, i protektivní účinky vůči infarktu myokardu. Tyto příznivé účinky jsou ale omezeny na 30-40 g alkoholu na osobu a den pro muže a 20 g alkoholu na osobu a den pro ženy. Pozitivní je v pivu i vysoký obsah polyfenolů pocházejících ze sladu a chmele a isohorke látky pocházející z chmele, které mají významnou emulgační schopnost a antimikrobiální účinek.

Závěr – Význam piva ve výživě

Pivo je obecně uznáváno jako nápoj významný pro utišení žízně, ale i pro výživnou a dietetickou hodnotu. Hlavními složkami tohoto nápoje jsou voda, alkohol, sacharidy, bílkoviny, horke látky chmele, polyfenolové sloučeniny, oxid uhličitý, vitamíny a minerální látky. Významnou vlastností extraktových složek piva je, že jsou bezezbytku stravitelné, takže se jedná o přírodní bezezbytkový nápoj šetrný k trávicímu traktu. Z důvodu obsahu alkoholu v pivu je nutná i střídmost při konzumaci. Ačkoliv se maximálně tolerované dávky alkoholu liší, udává se, že rozumná dávka alkoholu denně je u mužů takové množství piva, které obsahuje po přepočtení asi 30-40 g čistého ethanolu (2 piva o obsahu alkoholu 4% hm.). Ženy mají aktivitu alkoholgehydrogenasy nižší, a proto je tolerované množství alkoholu nižší, 20-30 g (odpovídá 1 pivo o obsahu alkoholu 4% hm.). Relativní riziko cirhózy jater totiž roste exponenciálně s množstvím požitého alkoholu, ale křivka vztahu mezi množstvím konzumovaného alkoholu a výskytem kardiovaskulárních chorob prochází minimem. Mírné množství alkoholu má na cévy prokazatelně příznivý efekt. Tyto příznivé účinky se ale týkají jen střídme konzumace a netýkají se nárazové konzumace a konzumace velkých množství (nestřídmeho pití).

Literatura

- Basařová G., Hlaváček I., Basař P., Hlaváček J. (2011) České pivo, 3.vydání, Havlíček Brain Team, Praha, 309 stran
- 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.: Pivovarství – sylabus předmětu, Ústav biotechnologie, VŠCHT Praha. Poslední aktualizace: 31.7.2013.
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, 1047 stran

R 15**ANTIOXIDAČNÍ KAPACITA NEROZPUSTNÝCH SLOŽEK NÁPOJŮ**

Cejpek K., Bícová M., Zemanová K., Konečný M.

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

Metody stanovení antioxidační kapacity (AOC) potravin obvykle využívají pouze analýzu extraktů z potravin. Skutečný příjem antioxidantů potravinami tak může být často významně podhodnocen, neboť neextrahovatelné antioxidanty vázané na nerozpustné části potravin nejsou do hodnocení zahrnuty. Po hydrolýze nebo jiném uvolnění z matrice v horní části gastrointestinálního traktu se však může část původně nerozpustných antioxidantů rovněž absorbovat. Pravděpodobně větší význam má ale přímý antioxidační účinek nerozpustných složek v tlustém střevě.

Výše uvedené skutečnosti se týkají nejen potravin v pevném stavu, např. cereálií s vyšším obsahem vlákniny, ale také nápojů se zákalem, které představují heterogenní hrubě disperzní soustavy. Trend rostoucí spotřeby méně upravovaných potravin má za následek mj. jistý posun poptávky od filtrovaných piv, sladových nápojů i ovocných šťáv k nefiltrovaným výrobkům. Je dobře známo, že např. nefiltrovaná piva obsahují vyšší koncentrace živin jako je thiamin a další vitaminy skupiny B, i dalších biologicky aktivních látek. Cílem této studie bylo získat informace o množství antioxidantů vázaných na nerozpustných částicích rozdílného charakteru, které jsou součástí některých druhů nefiltrovaných nápojů.

Pro stanovení celkové antioxidační (antiradikálové) kapacity cereálních výrobků existuje několik variant metody, která umožňuje analýzu nerozpustných podílů přímo, bez předchozí hydrolýzy. Na našem pracovišti jsme pro stanovení celkové AOC pšeničných otrub a podobných materiálů použili upravenou metodu na základě spektrofotometrického sledování zhášení radikálu ABTS⁺, když jsme po několikanásobné extrakci vzorku stanovili AOC odděleně ve spojeném extraktu a nerozpustném zbytku. Pro vzorky nápojů byla použita optimalizovaná metoda, která zahrnuje paralelní analýzu nefiltrovaných a filtrovaných nápojů.

Experimenty byly provedeny na nefiltrovaných a kvasnicových pivech a míchaných pivních nápojích (radlerech). Bylo zjištěno, že v nerozpustných frakcích těchto nápojů je soustředěna významná část antioxidantů. Byly hledány rozdíly v množství a distribuci antioxidantů v nefiltrovaných pivech a filtrovaných pivech s přídavkem kvasnic nebo pektinu. Diskutován je vliv přídavku kvasinek nebo pektinu na změnu celkové AOC i AOC jednotlivých frakcí.

Úvod

Většina metod používaných pro stanovení antioxidační kapacity (AOC) potravin je založena na analýze extraktů, takže skutečná celková AOC (total AOC, TAOC) potravin může být často výrazně podhodnocena. Převedení nerozpustných antioxidantů do roztoku po hydrolýze vzorku není využíváno příliš často a je navíc spojeno s některými nevýhodami (Serpen *et al.*, 2008). V nedávné době byly představeny metody umožňující měření celkové AOC bez předchozí extrakce a hydrolýzy vzorku založené na sledování zhášení barevných radikálů antioxidanty jak v rozpustné, tak i suspendované nerozpustné frakci potravin (Serpen *et al.*, 2007). Optimalizace těchto metod vedla až k jednoduchému a rychlému způsobu stanovení celkové AOC, která zahrnuje rozpustné a nerozpustné formy antioxidantů, v jednom kroku (Gokmen *et al.*, 2009). Metoda je založená na předpokladu, že dochází ke kvantitativní simultánní extrakci a reakci s činidlem v roztoku a na fázovém rozhraní pevná látka – kapalina. Kromě časové nenáročnosti metody je další deklarovanou výhodou absence extrakčních a hydrolytických postupů, které představují hlavní zdroj chyb a variability v postupech jednotlivých laboratoří a zvyšují nejistoty i při mezilaboratorním srovnávání výsledků.

Blahodárné účinky piva na lidské zdraví jsou často spojovány s fenolovými sloučeninami, zejména v souvislosti s jejich antioxidační aktivitou (AOA) a biologickou dostupností (Rivero *et al.* 2005). Kromě fyziologických účinků umožňuje přítomnost antioxidantů v pivu také dosažení žádoucí redoxní rovnováhy, mj. také potlačením tvorby nežádoucích karbonylových sloučenin

v průběhu stárnutí piva. Antioxidanty tak přispívají k udržení fyzikální a chemické stability piva (Vanderhaegen et al., 2006). I když odhady (Pellegrini et al., 2003) uvádějí až o řád nižší hodnoty AOC v pivech (světlych ležácích) než vínech (zejména červených), odhad příjmu antioxidantů z piva vzhledem ke spotřebě piva a vína v ČR (ČSÚ, 2011) je významně vyšší než z vína. Jak bylo nedávno na našem pracovišti zjištěno (Čechovská et al., 2012), fenolové látky sladu představují 48-57% redukční síly světlych ležáků a 33-45% redukční síly tmavých a speciálních ležáků, když byla hodnocena elektrochemická aktivita separovaných aktivních látek v amperometrickém detektoru ($E_a = +0,8$ V). Vysokomolekulární frakce (>1 kDa) melanoidinů piva je zodpovědná za 19-39% (světlé ležáky) a 14-21% (tmavá a speciální piva) redukční síly (elektrochemické kapacity). Mezi ostatní potenciální antioxidanty redukčního typu patří fenolové látky chmele, pozměněné fenolové látky sladu a nízkomolekulární produkty Maillardovy reakce, zejména pak 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-(4H)-pyran-4-on (DDMP, vykytuje se ve tmavých a speciálních ležácích).

Všechna dosud publikovaná data o AOC piv se týkají piv filtrovaných (tj. roztoků). Hodnoty AOC (TAOC) kvasnicových a nefiltrovaných piv, piv s přidavkem jiných extraktů a také míchaných nápojů na bázi piva (definice dle Vyhlášky č. 335/1997 Sb., §11) nejsou dosud k dispozici. Vzhledem k rostoucí spotřebě piv a nápojů na bázi piva se zákalem, trvajícím boomeru minipivovárečných podniků s výstavem nefiltrovaných piv a nárůstu oblíbenosti ovocných piv u některých skupin obyvatelstva není tedy od věci pokusit se zjistit, jak se podílejí na celkové AOC pevné složky disperzí v těchto nápojích a jaký je charakter antioxidantů v nerozpustných složkách uvedených nápojů.

Experimentální část

Vzorky

- pivo nefiltrované světlé (5 druhů)
- pivo kvasnicové světlé (3 druhy)
- pivo s přidavkem jablečného extraktu (1 druh)
- pivo nefiltrované tmavé (1 druh)
- pšeničné pivo (1 druh)
- nápoje na bázi piva (ovocná piva, radlery) (3 druhy)

Metoda stanovení antioxidační kapacity (AOC nebo TAOC)

- Metoda stanovení AOC představuje spektrofotometrickou metodu stanovení antiradikálové kapacity založenou na redukci a zároveň zhášení barevného ($\lambda=734$ nm) radikálu 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonové kyseliny (ABTS^{•+}) přítomnými primárními antioxidanty - dle postupu Re et al. (1999). AOC nebo TAOC je vyjádřena v mmol Troloxu/l vzorku (TEAC).
- *Stanovení AOC v roztoku piva:* Vzorek byl 3 minuty protřepáván, poté přefiltrován mikrofiltrací (Nylon, 0,22 μ m). K 200 ml roztoku ABTS^{•+} bylo přidáno 150 μ l vzorku. Po 25 min na třepačce a 5min odstředění byla změřena absorbance roztoku.
- *Stanovení TAOC v suspenzi piva:* Vzorek byl 3 minuty protřepáván, poté bylo přidáno 150 μ l vzorku k 200 ml roztoku ABTS^{•+}. Po 25 min na třepačce a 5min odstředění byla suspenze přefiltrována mikrofiltrací (Nylon, 0,22 μ m) a změřena absorbance roztoku. Rozdíl mezi TAOC a AOC roztoku odpovídá AOC nerozpustného podílu.
- *Gravimetrické stanovení nerozpustného podílu.* Celý obsah láhve piva byl odplyněn pomocí ultrazvuku po dobu 15 minut. Postupně se veškerý objem odstředil, a pivo se nechalo odstát. Tím došlo ke shluknutí kvasinek resp. pektinu do větších celků. Následně se opatrně a pomalu kvantitativně přefiltroval celý objem vzorku pod vakuem za pomoci mikrofiltru (0,45 μ m). Předem zvážený filtr se sušil s filtračním koláčem při 60 °C do konstantní hmotnosti.

- *Určení vlivu reakčního prostředí ABTS^{•+} na hodnotu AOC (TAOC).* Bylo smícháno 15 µl filtrovaného nebo nefiltrovaného vzorku s 20 ml roztoku ABTS^{•+} připraveným v destilované vodě, 1M roztoku NaCl, 50mM fosfátovém pufru, roztoku ethanol : 50mM fosfátový pufr (1:1, v/v) a 99,9 % ethanolu.
- *Vliv kyselých podmínek žaludku na AOC (TAOC).* Bylo smícháno 50 ml filtrovaného nebo nefiltrovaného piva s 50 ml roztoku HCl o pH 2. Poté byla směs vložena do horkovzdušné pece při teplotě 37 °C na dobu 20 minut. Tím došlo k simulaci kyselých podmínek v žaludku bez použití enzymů. Poté byla ve vzorku stanovena AOC (TAOC).

Výsledky

Nerozpustné složky se na celkové antioxidační kapacitě (TAOC) nápojů, které mají charakter hrubé heterogenní disperze, podílejí významným způsobem. Základy v pivech a nápojích na bázi piva jsou nositeli významného antioxidačního účinku bez ohledu na původ a charakter disperze. Vyšší podíl antioxidantů v nerozpustné frakci mají vzorky nápojů na bázi piva (35–55 % TAOC), v menším měřítku se podílí na TAOC nerozpustný podíl kvasnicových a nefiltrovaných piv (9–33 %). Nerozpustný podíl světlých ležáků se na TAOC může podílet více (19–33%) než v případě tmavého (9 %) a pšeničného piva (14 %; vzhledem k malému souboru dat to ale nebylo statisticky prokázáno). Významné rozdíly v hodnotách TAOC skupin piv nefiltrovaných, kvasnicových či s přidavkem pektinu nebyly zjištěny. TAOC ovocných piv je ve srovnání s analyzovanými pivy sotva poloviční. Souvisí to jednak s použitím piv s nižším extraktem nebo nealkoholických piv při jejich výrobě a s omezeným příspěvkem ovocné složky na AOC rozpustné frakce. Kvasnice v pivu jsou bohaté nejen na některé esenciální výživové faktory, ale vykazují i vysokou antioxidační kapacitu. AOC pevného podílu v pivech činí 0,17–0,262 mol TE/kg d.w., v ovocných pivech 0,11–0,25 mol TE/kg d.w.

V dalším experimentu jsme ověřili, zda je AOC pevného podílu kvasnicového piva nebo piva s přidavkem pektinu výsledkem sorpce aktivních látek z roztoku piva nebo dotýčnou AOC vnášejí samotné kvasinky, resp. jablečný extrakt. Výsledky experimentů s přidavkem vypraných pivovarských kvasinek, resp. pektinu do zfiltrovaných piv prokázaly, že AOC nerozpustného podílu je inherentní vlastností těchto systémů, neboť k žádné významné sorpci antioxidantů z roztoku na pevné částice nedochází. Filtrace piva tedy vede k významnému snížení celkové antioxidační kapacity (TAOC) piva.

Při optimalizaci metody stanovení TAOC bylo vybíráno vhodné reakční prostředí (rozpouštědlo) pro reakci ABTS^{•+} s antiradikálově působícími antioxidanty. Zatímco u filtrovaného piva nebyly hodnoty TEAC použitým prostředím významně ovlivněny, u nefiltrovaných vzorků představuje jednoznačně nejvhodnější prostředí 50mM fosfátový pufr o hodnotě pH 7,4. Ze získaných výsledků vyplývá, že použitá prostředí nemají vliv na stabilitu ABTS^{•+} nebo na rozpustnost antioxidantů, a také zásadně neovlivňují snadnost odštěpení vodíku z antioxidantů. Liší se ale ve způsobu a míře solvatace částic a průniku rozpouštědla s radikály činidla dovnitř částic nerozpustného podílu.

Při simulaci podmínek horní části zažívacího traktu bylo zjištěno, že kyselé podmínky žaludku nijak významně nemění množství ani distribuci antioxidantů v rozpustné a nerozpustné frakci, ať už v případě kvasinek nebo pektinu.

Poděkování

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

Literatura

- Czech Statistical Office (2010). Consumption of food, beverages, and cigarettes in the Czech Republic in 2001–2009. Available at: <http://www.czso.cz/csu/2010edicniplan.nsf/engp/3004-10>. Accessed Jan 13, **2011**.
- Čechovská L., Konečný M., Velišek J., Cejpek K.: Effect of the Maillard reaction on reducing power of malts and burs. **2012**, *Czech J. Food Sci.*, 30, 548–556.
- Gökmen V., Serpen A., Fogliano V. **2009**. Trends Food Sci. Technol. 20: 278–288.
- Pellegrini N. et al., Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays. **2003**, *J. Nutr.* 133 (9) 2812–2819).
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. **1999**. Free Rad. Biol. Med. 26:1231–1237.
- Rivero D., Perez-Magarino S., Gonzalez-Sanjose M.L., Valls-Belles V., Codoner P., Muniz P. **2005**. Inhibition of induced DNA oxidative damage by beers: Correlation with the content of polyphenols and melanoidins. *J. Agric. Food Chem.* 53: 3637–3642.
- Serpen A., Capuano E., Fogliano V., Gökmen V. **2007**. *J. Agric. Food Chem.* 55: 7676–7681.
- Serpen A., Gökmen V., Pellegrini N., Fogliano V. **2008**. *J. Cereal Sci.* 48: 816–820.
- Vanderhaegen B., Neven H., Verachtert H., Derdelinckx G. **2006**. The chemistry of beer aging – a critical review. *Food Chem.* 95: 357–381.

R 16**MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE NEALKOHOLICKÝCH NÁPOJŮ**

Horsáková I., Voldřich M., Čížková H., Duchová I., Reitschmied T.

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

Mikroorganismy, které se mohou vyskytnout v balených vodách, ať už ochucených a slazených nebo neochucených, je celá řada. Některé z přítomných mikroorganismů však mohou způsobit různé smyslové problémy, jako je vznik sedimentu, plovoucích klků nebo zákalu. Více náchylné k těmto problémům jsou vody nesycené, kde byly zaznamenány problémy způsobené bakteriemi, jako jsou např. *Asaia*, *Gluconacetobacter*, *Caulobacter*, *Acidovorax*. Občas se tyto problémy vyskytnou i u sycených nápojů a to zejména jemně perlivých. Problematika senzorických změn se nevyhýbá ani ovocným džusům, u nich se občas mohou objevit sporotvorné bakterie rodu *Alicyclobacillus*, která způsobují charakteristický zápach po guajakolu. V neposlední řadě se v některých nápojích obzvláště u čajů a nesycených vod objevují plísňe, které nejen že způsobují masivní nárůst v nápoji, ale pokud je výrobek konzervován sorbanem, způsobují jeho dekarboxylaci a tím vytvářejí látku 1,3 – pentadien, která způsobuje silný zápach výrobku. Úkolem této přednášky je popsat jednotlivé mikrobiální problémy.

BIOFILM

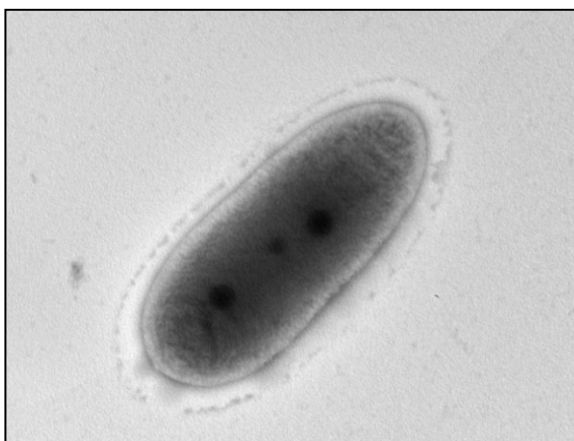
Biofilm lze definovat jako shluky či kolonií mikroorganismů pevně spojených s povrchem. Tato seskupení mikroorganismů jsou obalena vrstvou extracelulární polymerní substance, jež je chrání před vnějšími podmínkami. Bakterie, které jsou součástí biofilmu, lépe odolávají účinkům sanitačních roztoků a vyšším koncentracím biocidních látek, než volné bakteriální buňky. Pozitivní využití může najít biofilm v úzce specializovaných odvětvích, ale častěji se setkáváme s jeho negativním vlivem (např. pivovarnictví, mlékárenství, masná produkce, atd.). Biofilmy se mohou vyskytovat i navzdory nízkému obsahu živin, mikrobiologické rozbory prokázaly přítomnost biofilmu i v rozvodech sanitačních systémů, pitné a průmyslové vody /Sharma, 2002/.

Zdrojem kontaminace finálního produktu mnohdy nejsou samotné vstupní suroviny nebo povrchy materiálů, které se surovinou přijdou přímo do styku. Tyto plochy podléhají sanitačnímu ošetření i několikrát denně a mikrobiální zárodky tak nemají dostatečný čas k pomnožení. Rizikovými úseky jsou stěny, rohy, mezery, praskliny a nerovnosti ploch (zvlněné plochy) /Shi, 2009/. Jednou z prevencí vzniku biofilmu je tzv. hygienický design, plochy hladké, svislé nebo nakloněné. Tyto jednoduché konstrukce lze čistit bez nutnosti demontáže, tzv. CIP (clean in place) čištění. K redukci a odstranění biofilmu lze použít různorodé metody – biologické, fyzikální a převážně chemické. V případě biologických metod v úvahu připadá zejména využití enzymů, fágů, biocinů a bioregulátorů. Některé z těchto metod, zejména využití fágů jsou však v počátcích a praktické využití v širokém měřítku zatím nemá /Simões et al, 2010/. Novým přístupem je řízení vzniku biofilmu pomocí povrchově aktivních látek produkovaných samotnými mikroorganismy či produkty jejich vlastního metabolismu. Úspěšných výsledků bylo dosaženo s využitím *Lactococcus lactis* 53 a *Bacillus subtilis*, které produkují povrchově aktivní surfaktin. Pozitivní výsledky s aplikací surfaktinu byly dosaženy u biofilmů *Salmonella enterica*, *E. coli* a *Proteus mirabilis* /Simões et al., 2010/. Z fyzikálních metod se v praxi využívá intenzivní magnetické pole, ultrazvuk, pulzní elektrické pole a také kombinace těchto metod s využitím organických kyselin, nízké elektrické pole s využitím biocinů. Využití ultrazvuku (jako sanitační metody) zaznamenalo v poslední době poměrně prudký rozvoj. Důležitá je možnost čištění slepých a mrtvých míst zařízení a tvarově složitých předmětů, kde je vyšší pravděpodobnost vzniku biofilmu. Se vzrůstající intenzitou ultrazvuku počet usmrcených buněk roste, zatímco s rostoucí frekvencí ultrazvuku klesá /Bigelow et al, 2009/.

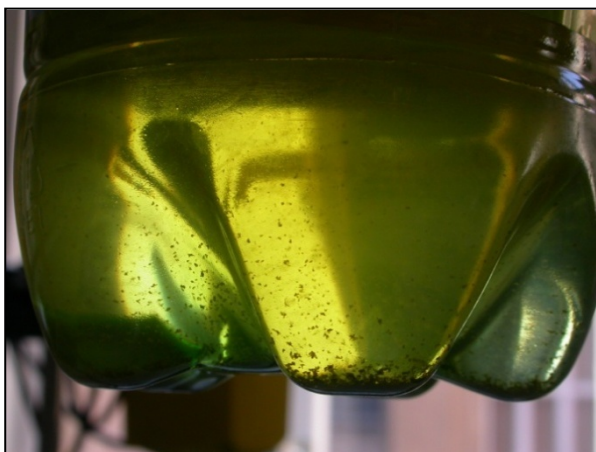
PŘÍKLADY MIKROORGANISMŮ ZPŮSOBUJÍCÍCH DEFEKTY V NEALKOHOLOCKÝCH NÁPOJÍCH



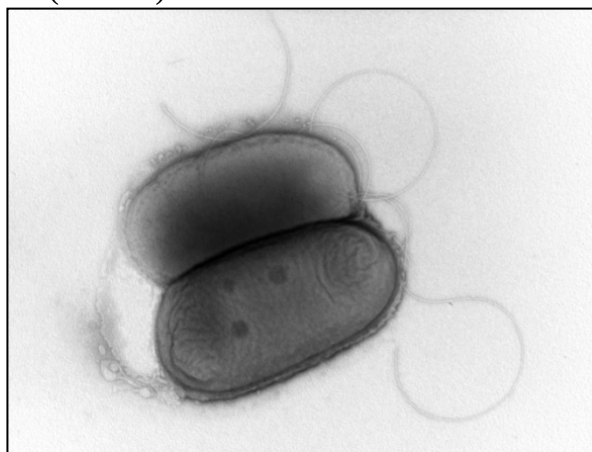
Plovoucí klky v ovocném nápoji



Asaia sp. buňka s polysacharidovým pouzdem (30000x)



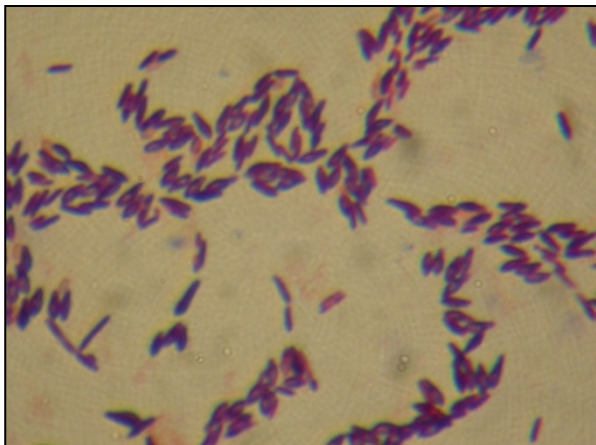
Sediment tvořený bakteriemi na dně zeleného čaje



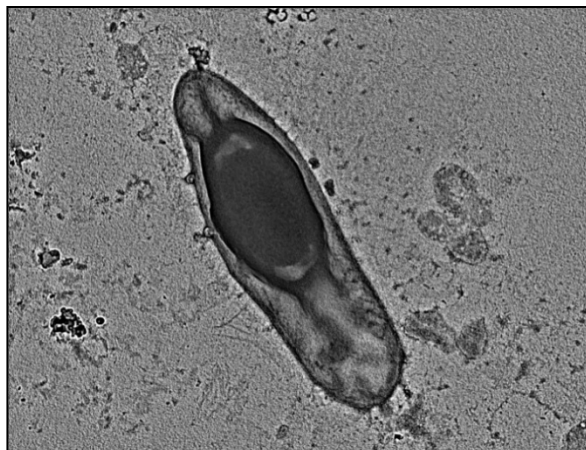
Bakterie *Gluconacetobacter liquefaciens* (zvětšení 25000x)

Tyto bakterie způsobovaly časté problémy zejména v teplých obdobích roku. Byla zaznamenána v nápojích obsahujících ovocnou složku, jednalo se o nápoje nesycené a nealkoholické. Jejich přítomnost byla také zjištěna v balených čajích ochucených ovocnou složkou. Nejpravděpodobnější původ těchto bakterií je v surovinách a to v ovocných koncentrátech přidávaných do nápojů. Přítomnost těchto bakterií v některých případech však byla zjištěna i v pitné vodě. V případě ovocných koncentrátů se bakterie vyskytují pravděpodobně v nízkých počtech, čili problém nezpůsobuje samotná přítomnost bakterií v koncentrátu, ale jejich schopnost tvorby biofilmu. Tyto aglomeráty se později začnou uvolňovat do vyráběného nápoje a způsobují tak jeho kontaminaci. Bakterie, které se takto dostanou do nápoje, jsou schopny se po určité době a za určitých podmínek pomnožit a vytvořit tak nevzhledné usazeniny anebo plovoucí klky. Většinou se nedaří tyto biofilmy odstranit běžnou sanitací, a proto se v těchto případech doporučuje zařízení rozebrat a provést mechanické vyčištění.

Bakterie rodu *Alicyclobacillus*



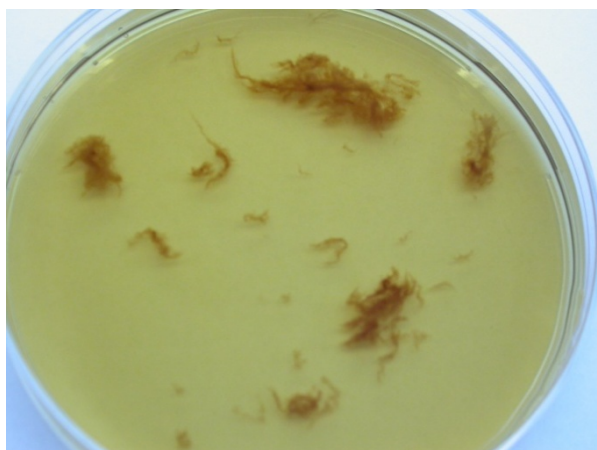
Bakterie *Alicyclobacillus acidoterrestris*, Gramovo barvení (zvětšení 1000x)



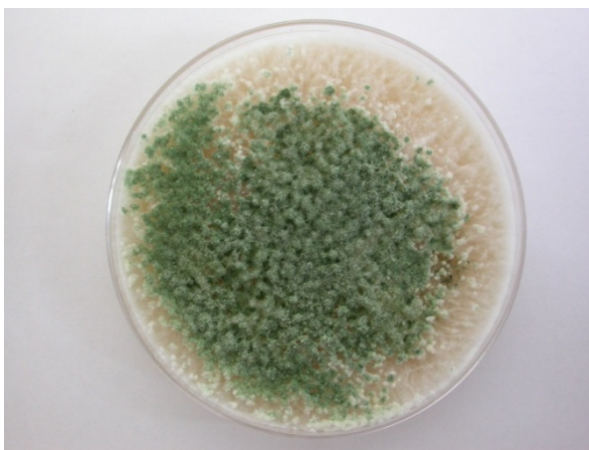
Bakterie *Alicyclobacillus acidoterrestris* se subterminálně umístěnou sporou

Tento druh bakterie rodu *Alicyclobacillus* byl izolován ze 100 % pomerančového džusu. Spory této bakterie jsou schopny klíčit i v nízkém pH okolo 2,5 a jsou odolné k teplotnímu zahřevu, tedy přežívají pasteraci hotového produktu. Původ těchto bakterií byl zjištěn v surovině pro výrobu džusu a to v pomerančovém koncentrátu. V nápojích se objevují dva druhy této bakterie, a to *Alicyclobacillus acidoterrestris*, který má optimální teplotu růstu 45°C a také *Alicyclobacillus acidocaldarius*, který má optimální teplotu růstu 65°C. Tyto bakterie se běžně vyskytují v půdě a z tohoto prostředí se přenesou na spadlé ovoce, a při nedokonalém omytí nebo v případě poraněných plodů se dostanou při lisování do šťávy a následně do koncentrátu. V tomto případě se doporučuje výrobci přijímat od dodavatele koncentrát prostý těchto bakterií a požadovat od dodavatele deklaraci nepřítomnosti těchto bakterií, jelikož přítomnost této bakterie způsobuje výrobcům nemalé potíže, protože v nápoji způsobuje nepříjemný zápach způsobený guajakolem.

Plísňe a kvasinky



Plovoucí chuchvalce plísňe v černém čaji



Trichoderma atroviride – černý čaj (balený)

Problematika tvorby 1,3 - pentadienu v potravinách je známa již od r. 1956. Jedná se o vysoce těkavou látku. Vzniká mikrobiální dekarboxylací kyseliny sorbové v potravinách a nápojích a způsobuje nežádoucí zápach. Tuto dekarboxylaci způsobují zejména plísňe nebo kvasinky. Senzoricky postřehnutelná je již koncentrace 1 mg/kg. Vyskytuje se v potravinách, jako jsou např. pekařské výrobky, nápoje, marcipán, tavené sýry a pomazánky, džemy a ovocné pomazánky a produkty s kulturními mikroorganismy (plísňové sýry, fermentované mléčné výrobky). Plísňe, které tento defekt způsobovaly a byly identifikovány, jsou: *Trichoderma atroviride* izolována

z černého čaje (balený), *Penicillium corylophilum* izolována z ochucené minerální vody, *Paecilomyces saturatus* izolován z jahodového nápoje. Další mikroorganismy, které 1,3-pentadien vytvářejí, jsou např.: plísně: *Penicillium chrysogenum*, *P. simplicissium*, *P. crustosum*, *P. roqueforti*, *P. caseicolum*, *Aspergillus niger*, osmotolerantní kvasinky: *Zygosaccharomyces rouxii*, *Debaryomyces hansenii*.

Poslední zmíněným mikroorganismem je kvasinka *Candida etchellsii*, která způsobovala kvašení v sirupu, u kterého nebyla použita žádná konzervační látka, sirup byl pouze opakovaně pasterován při teplotě 80°C. Kontaminace se však začala projevovat až několik týdnů po výrobě. Z rychlosti kažení sirupu lze usoudit, že se kvasinka vyskytovala v počátku v nízkých koncentracích (jednotlivé buňky). Tyto kvasinky nebyly však zjištěny v žádných surovinách používaných při výrobě sirupu. Kažení touto kvasinkou se projevovalo tvorbou bublin a nárůstem na hladině sirupů. Jelikož se dá předpokládat, že kvasinka pochází z koncentráту, bylo v tomto případě doporučeno tepelné ošetření naředěného koncentráту ještě před přidavkem cukru, aby došlo k lepšímu prostupu tepla.

Literatura / References

- Yamada, Y., Katsura, K.: *Asaiabogorensis* gen. nov. Sp. nov., an unusual acetic acid bacterium in the alpha – Proteobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, 823-829 (2000).
- Sedláčková P., Čeřovský M., Horsáková I., Voldřich M.: Cell surface characteristics of *Asaiabogorensis* – spoilage microorganism of bottled water. *Czech J. Food Sci.*, 29, p. 457-461, ISSN 1212-1800, (2011).
- Cochran, W.L., McFeters, G.A., Stewart, P.S.: Reduced susceptibility of thin *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to hydrogen peroxide and monochloramine. *J. Appl. Microbiol.* 88, 22-30 (2000).
- Hofvendahl, K., Hahn-Hagerdal, B.: Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources, *Enzyme and Microbial Technology*, 26, 87-107 (2000).
- Bahceci, K. S., Gokmen, V., Serpen, A., Acar, J.: The effect of different technologies on *Alicyclobacillus acidoterrestris* during apple juice production. *European Food Research and Technology*, 217 (3), 249-252, (2003).
- Fabíková I., Voldřich M., Ševčík R., Hönigová P., Čeřovský M.: Guaiacol formation in apple juice effect of selected additives on *Alicyclobacillus* growth, *Czech J. Food Sci.*, Special Issue, Vol. 22, 246-249, Prague 2004.
- Sharma, M., Anand, S.K.: Biofilm evaluation as an essential component of HACCP for food/dairy processing industry – a case. *Food control* 13, 469-477 (2002).
- Shi, X., Zhu, X.: Biofilm formation and food safety in food industries. *Trends in Food Science & Technology* 20, 407-4013 (2009).
- Simões, L.C., Simões, L., Vieira, M.: A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT – Food Science and Technology* 43, 573-583 (2010).
- Bigelow, T.A., Northagen, T., Hill, T.M., Sailer, F.C.: The destruction of *Escherichia coli* biofilms using high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound in Medicine & Biology* 35, 1026-1031 (2009).

Projekt byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum MŠMT č. 20/2013.

R 17**SFC - NOVÝ TREND KAPALINOVÉ CHROMATOGRRAFIE**

Exner M.

WATERS Ges.m.b.H., org. složka Praha

FIREMNÍ PREZENTACE

Superkritická fluidní chromatografie (SFC) je metodou známou již desítky let a byla do ní vkládána velká očekávání, která však nenaplnila. Proč? A podaří se jí to nyní?

R 18**INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE A JEJÍ VYUŽITÍ V POTRAVINÁŘSTVÍ**

Kadlec I., Fleglová I., Dvořáková P.

MILCOM servis, a.s., Praha

FIREMNÍ PREZENTACE

Spektroskopické metody se zakládají na interakci záření s hmotou, zejména tedy různé pohltivosti látek /absorpci/, nebo jejich schopnosti vyzařovat /emitovat/ světlo pro různé vlnové délky. Infračerveným zářením je elektromagnetické záření v rozsahu dále uvedených vlnových délek. Dle aspektu různých vlnových délek, tedy typu záření, rozlišujeme především infračervenou, viditelnou a ultrafialovou spektroskopii.

Z hlediska rozborů kvality potravin, krmiv a surovin pro jejich výrobu a tohoto pojednání nás zajímají především rozborů v infračervené oblasti. V poslední době pak zejména rozborů v IR oblasti využívající Fourierova efektu /Fourierovy transformace/ založené na matematické transformaci interferogramu, t.j. závislosti intenzity signálu vystupujícího z interferometru na dráhovém rozdílu paprsků.

Základní fyzikální vlastností látek je, že mohou absorbovat či emitovat záření specifických vlnových délek. Neexistují dvě chemicky odlišné látky, které by emitovaly či absorbovaly stejné emisní či absorpční spektrum.

Infračervenou oblast rozdělujeme na :

- | | |
|--|--------------------------------|
| a/ blízkou infračervenou oblast | 13000- 4000 cm . -1 NIR |
| b/ střední infračervenou oblast | 4000- 200 cm . -1 MIR |
| c/ vzdálenou střední oblast | 200- 10 cm. -1 FIR |



Nejvyužívanější oblastí je střední infračervená oblast, v současné době nabývá stále většího významu Fourierova transformace, a to i v oblasti NIR, a to zejména pro svou vysokou přesnost.

Analytickým výstupem je infračervené spektrum, které je grafickým znázorněním funkční závislosti energie na vlnové délce dopadajícího záření vyjádřené v procentech transmitance /T/, propustnosti záření které prošlo vzorkem, nebo jednotkách absorbance /A/, dle typu přístrojů využívajících principu transmise či reflektance /odrazu záření/ a absorpce. IR spektrometrií je možno měřit vzorky všech skupenství t.j. kapalného, pevného i plynného.

V současné době existuje na našem trhu široká nabídka jednotlivých výrobců a jejich distributorů.

Analýzy

První červené infraanalýzátory se dostaly na náš trh již před více než 50 lety. Jednalo se především o analyzátory vlhkosti, respektive sušiny, jednoúčelové analyzátory obsahu tuku a bílkovin. Příkladem mohou být analyzátory Grainspec, Milkotester, Promilk a další. Byly zaváděny především v obilnářství, mlékárenství a kontrole užitkovosti dojníc. Jednalo se především o přístroje firmy FOSS, dá se říci pionýra v této oblasti, která je považována díky svému trvalému výzkumu a zavádění



Obr.1 Moderní analyzátor Infraxact

novinek a nových typů přístrojů za jednu z předních firem. Firma Foss samozřejmě nezůstala osamocena, následovala ji řada dalších firem a dnes je v této oblasti na našem , i když poměrně

malém trhu obrovská konkurence. Je možno jmenovat, vedle firmy FOSS, zejména firmy Perten Instruments AB, DSM Food specialitis, Delta Instrumets, Bentley Instruments, Thermo Scientific, BUCHI , Bruins instruments, Brucker Optics a jejich výhradní distributory jako Milcom servis a.s, OK servis Biopro, NOACK ČR, Bentley Czech, Nicolet CZ, Donau Lab, Mezos a další.

Přelomové období ve využití IR analýz znamenal v 80. letech rozvoj centralizovaného hodnocení mléka pro účely jeho zpeněžování a kontrolu užitečnosti dojenic. Umožnil to vývoj vysokokapacitních přístrojů řady CombiFoss pro hodnocení obsahových složek mléka a somatických buněk v mléce s kapacitou rozborů až 600 vzorků za hodinu.

Zavedení průtokové cytometrie pak umožnilo i analýzy celkového počtu mikroorganismů v syrovém mléce.

Centralizace se uplatnila nejen v oblasti mléka, ale i vína a dalších oborů. Rozšiřující se využívání analýz v blízké IR oblasti s následným využitím FTIR přístrojů využívajících Fourierovy transformace pak umožnilo vývoj přístrojů s vyšší přesností a nasazení do praxe prakticky do všech oborů potravinářství, krmivářství a surovin jak rostlinného , tak živočišného původu



Obr. 2 CombiFoss.

Na druhé straně centralizace hodnocení a zvyšující se kapacity si vyžádaly i vývoj nových nízkokapacitních přístrojů, dokonce i přenosných , zejména v obilnářství, s postačující přesností a nižší cenou pro operativní zásahy nejen v kvalitě výrobků, ale i jejich standardizaci a ekonomiku sklizně a výroby.

Z hlediska výrobní strategie firem jsou vyráběny a dodávány přístroje univerzální a přístroje specializované nejen pro jednotlivé obory, ale i jednotlivé produkty a to ať již z hlediska skupenství /pro tekuté, pevné, práškovité, pastovité atd. produkty/, ale i jednotlivé druhy výrobků potravin, krmiv a surovin. Jejich předností je i dodávka hotových kalibrací, které není již třeba vyvíjet na místě dodávky. Jedná se o přístroje **plug and play** /zapoj a pracuj/ .

Špičkové firmy využívají pro své specializované přístroje nejen optimální oblast infračervené oblasti, ale zvažují i vhodnost FTIR technologie tak, aby pro daný druh výrobků byla vždy zvolena optimální technologie, včetně přípravy vzorků. To je důvod, proč ve většině závodů ve vyspělých zemích je využíváno vždy více specializovaných přístrojů ..



Obr. 3 FoodScan Dairy

Další vývoj v analýze potravin vede k:

-zavádění rychlých metod v laboratořích v souladu s výrobními požadavky během výrobních procesů se schopností rychlé reakce a výsledků v potřebném čase a intervalu mezi laboratořemi a výrobním personálem a zejména zavádění nových rychlých metod přímo do linek výrobních procesů redukujících čas analýz a zvýšení frekvence získávání výsledků analýz proti laboratorním off-line analýzám

- používání pomalých klasických metod pouze pro zpětnou verifikaci, kdy výrobek je již vyroben, zabalen a někdy již i v distribuci.

I rychlé metody aplikované v laboratořích mají jisté zdržení.

Proto jsou zaváděny:

- **in-line, on-line, at-line systémy a přístroje** a moderní a jednoduchá softwarová řešení včetně navazující automatizace laboratorních prací a zpracování dat.

Zejména in-line a on-line analýzy prakticky eliminují časové zdržení a mohou být prováděny ve větší frekvenci, než off-line analýzy požadované na laboratořích. Automatickou transformací do řízení výroby je docilováno plné optimalizace výroby

Aplikace jednotlivých typů přístrojů

- **In line**, přímo ve výrobní lince se nachází průtoková cela nebo čidlo.
- **On-line**, přímo ve výrobní lince, ale přístroj je umístěn mimo linku a do přístroje přichází produkt odbočkou /by pass/
- **At-line**, mimo linku, přístroj je umístěn přímo v provozu

Tyto nové formy kontroly poskytují obrovský profit:

- Růstem produkčních zisků a úsporou energie
- Rychlým tokem výroby bez přerušení pro standardizaci
- Zajištěním dokumentace výroby
- Lepší shodou výroby
- Redukcí potřeb nových holdingových kapacit
- Laboratorními a energetickými úsporami



Obr. 4 In line přístroj pro výrobu mouky

Jak jsem již výše uvedl, IR spektrometrie je využívána prakticky ve všech oborech potravinářství, tedy kontrole mléka, masa, vína, piva a dalších nápojů, obilovin a zrnin, tuků a olejů, cukrovinek, salátových dresinků a koření a dalších a výrobků těchto oborů.

Své místo nachází i v krmivářství, kontrole zemědělské výroby, vody a půdy. Druhů analýz a kalibrací pro tyto analýzy nabízí špičkové firmy nepřehledné množství, tedy nejen vody a sušiny, obsahových látek jako tuku, bílkovin atd. pro standardizaci výrobků a kontrolu kvality, ale i různých kyselin, etanolu, metanolu, nitritů a nitrátů, indikátorů změn kvality, soli a dalších specializovaných parametrů a požadavků na výrobu a kvalitu dle jednotlivých oborů. Pro každý obor by bylo možno napsat samostatnou informaci.

Po zabezpečení standardizace a požadované kvality nejen dle naší legislativy, někdy i přísnější než je legislativa členských zemí EU, se požadavky budou stále více orientovat na takové parametry, které budou přispívat k ekonomice výroby v celém výrobním procesu daného oboru od suroviny, přes zpracování až ke spotřebiteli a ekologické výrobě a to v duchu hesla **Z pole až na stůl**. Mé celoživotní zkušenosti říkají, že bez stálého tlaku na kvalitu na jedné straně a finančních stimulů na její zvyšování na straně druhé dochází po docílení limitů kvality ke stagnaci. Příkladem může být syrové kravské mléko. Poměrně rychle jsme se dostali na kvalitu požadovanou limity EU a naší legislativy již začátkem 90. let a od té doby se s nevýznamnými rozdíly pohybujeme na dosažené úrovni a dá se konstatovat, že jsme i sledování řady znaků, které jsme hodnotili např. u výběrového mléka, dokonce většinou opustili, i když laboratoře příslušné parametry nabízí. Stagnaci můžeme pozorovat zejména u počtu somatických buněk, indikátoru zánětů mléčné žlázy dojníc a subklinických mastitid majících výrazný dopad na ekonomiku výroby mléka.

Nemohu se nezmínit v oblasti novinek a analýz zejména o analýzách pro management stáda a ekologickou výrobu mléka. Již poměrně delší dobu jsou výrobcům a zpracovatelům mléka nabízeny analýzy močoviny a kyseliny citronové k posouzení stavu bílkovinného a glycidového metabolismu dojníc, nově pak špičkoví výrobci nabízí i stanovení ketolátek v mléce. Dostatečnou přesnost jejich stanovení umožnily nové technologie, zejména FTIR technologie. Výsledky uvedených analýz dávají výrobcům mléka možnost okamžitých operativních opatření ve výrobě mléka, zpracovatelům pak rychlou informaci o kvalitě mléka a jeho technologickou využitelnost.

Naprostou a poslední novinkou jsou analýzy pro stanovení mastných kyselin v mléce. Delší dobu se již stanovují volné mastné kyseliny jako kvalitativní ukazatel ukazující na lipolýzu mléka, s tím souvisí i případný vyšší počet psychrotrofních mikroorganismů, negativní ovlivnění chutě, dopad na výrobu a trvanlivost atd.

Zcela nově a u nás zatím nevyužívána je možnost analýz nasycených, nenasycených, trans mastných kyselin a jejich dalších skupin, včetně jednotlivých druhů kyselin. Cílem by měla být výroba mléka s optimálním podílem jednotlivých mastných kyselin na základě úpravy krmných dávek dojníc a zvyšování jejich užitkovosti a zvyšování ekologické kvality mléka a snižování emisí skleníkových plynů. Názory se různí na to, kdo je největším producentem skleníkových plynů /zejména metanu/, ale v každém případě skot je jedním z nich. V nedávné době např. i televizní šot upozornil na knížku o meteorismu neboli flatulenci a skleníkových plynech /autor hovořil přímo o prdech/ a jejich produkci lidskou populací.

Analýzy mastných kyselin bohužel u nás nejsou zatím využívány právě pro nedostatek ekonomických stimulů, jak jsem výše uvedl. Mlékaři na ceně nepřidají a bez toho zemědělci nebudou investovat. Začarovaný kruh stále funguje, nejen v oblasti mléka.



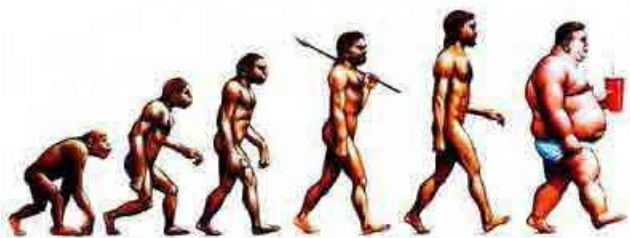
Obr. 5 Jen to zapálit

Proč nás mléčný tuk a mastné kyseliny zajímají ?

Jejich spektrum :

- je charakteristické nejen pro jednotlivé rostlinné či živočišné tuky, ale i pro kvalitu a technologii mlékárenského zpracování, se vzrůstem obsahu C 18 : 1/ C 16 : 1 se např. zlepšuje roztíratelnost másla, se vzrůstem obsahu C 18 : 1/ C 16 : 1 a C 18 : 3 n-3 se zlepšuje kvalita sýrů, s dalšími se zvyšuje chuť a vůně atd.,
- některé mastné kyseliny nejsou kravami syntetizovány, ale musí být přidány krmivem, zejména materiály s bohatým obsahem Omega 3 MK, obsah a složení mastných kyselin je v korelaci se zdravím krav, plodností a výsledkem inseminací, ovlivňuje bachorové pH
- složení a profil MK ovlivňuje produkci skleníkových plynů .

Mléčný tuk a jeho složení má i svoje zdravotní aspekty, ale to bych nosil vodu do rybníka.



Obr. 6 Tak jsme se zatím vyvíjeli.

Řízenou výživou můžeme ovlivňovat obsah MK a zvyšovat podíl např. nenasycených, omega mastných kyselin a dalších. Dostává se nám do rukou i možnost snižování produkce skleníkových plynů. Se stoupající užitkovostí krav a spotřebou krmiv s vyšším obsahem sacharidů dochází ke snižování produkce metanu na 1 litr vyrobeného mléka. Dle obsahu mastných kyselin můžeme usuzovat i na formy porušení mléka jinými formami mlék, rostlinných tuků atd.



Jedna z teorií snad bláznivých či pravdivých říká, že brontosauři vyhynuli i díky vysoké produkci skleníkových plynů. **Lidé chraňte nás i sebe.**

Věřím, že v brzké době budou dodávány i spolehlivé IR přístroje pro typizaci mikroorganismů, což opět umožňuje FTIR spektroskopie na základě charakteristických spekter jednotlivých druhů mikroorganismů.

Kvalita přístrojů a poskytovaných služeb.

Obecně je možno konstatovat, že IR přístroje jsou dodávány ve velmi dobré kvalitě. Výrobci i distributoři splňují příslušné požadavky kladené jak EU, tak tuzemskou legislativou, zákazníkovi předávají příslušné ISO certifikáty kvality, prohlášení o shodě na technické požadavky s příslušnou labelací přístrojů a další požadované obchodní dokumenty.

Distributoři zajišťují záruční i pozáruční servis, preventivní prohlídky, v případě požadavků zákazníka i validaci přístrojů, úpravy či vývoj kalibrací atd. Zároveň je zajišťován i referenční materiál ať z tuzemských či zahraničních pracovišť a organizovány mezilaboratorní a kruhové testy. Nadnárodní firmy si často zajišťují i kontakt na vlastní pracoviště s master přístroji a vlastními kalibracemi. Příslušné programy výrobců mohou v případě zájmu zákazníka poskytovat v rámci servisu i vzdálenou softwarovou podporu. Pokud jsou přístroje používány jako obchodní měřidla, zejména u obilí, jsou certifikovány u Českého normalizačního institutu a pravidelně ověřovány.



**Obr. 7 Příprava referenčních vzorků
ve VÚM Praha**

Jednou z rozhodujících činností úspěšného prodeje IR analyzátorů je právě šíře poskytovaných služeb a činnost a orientace jednotlivých distributorů a jejich pracovníků - prodejců pro jednotlivé obory, znalost technologických postupů výroby a možností nasazení přístrojů ke zvýšení nejen kvality výrobků, ale celé ekonomiky počínaje výrobou surovin, jejich zpracování a prodeje výrobků. Ta se stává rozhodující nejen v soutěži zpracovatelů o konečného zákazníka, ale jejich ekonomické úspěšnosti a dalším rozvoji firmy a celého oboru, zejména v dnešní komplikované době.

R 19**CHEMICKÁ A FYZIKÁLNÍ KONTROLA KVALITY – FIREMNÍ PREZENTACE DONAULAB**

Bervida F.

DONAU LAB, s.r.o. Praha

FIREMNÍ PREZENTACE

R 20**DATABÁZE SLOŽENÍ POTRAVIN ČESKÉ REPUBLIKY**Macháčková M.¹, Holasová M.², Mašková E.²

1) Ústav zemědělské ekonomiky a informací, Mánesova 1453/75, 120 56 Praha 2

2) Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i., Radiová 7, 102 31 Praha 10

Úvod

Databáze složení potravin (DBSP) je specifický typ faktografické databáze, který obsahuje data o chemickém složení potravin utříděná v několika informačních úrovních. Tabulky složení potravin představují výstupní sestavy z DBSP. Hodnoty uvedené v DBSP jsou deklarovány jako orientační, neboť složení potravin jako biologické matrice není stálé. Je ovlivněno způsobem primární výroby surovin a potravin, jejich skladováním, nakládáním a zpracováním⁽¹⁾.

Historie DBSP v zahraničí a v České republice

První databázová pracoviště zahájila činnost koncem XIX. století v Německu, Dánsku a v USA. Většina projektů národních DBSP byla založena po II. světové válce. V r. 1984 vznikla z iniciativy FAO a United Nations University Mezinárodní celosvětová informační síť International Network of Food Data Systems - INFOODS (<http://www.fao.org/infoods/infoods/en/>) s cílem založit regionální databázová centra, sjednotit postupy pro zpracování dat a vybudovat systém vzdělávání pro zpracovatele a uživatele DBSP. V r. 1992 Američané jako první publikovali DBSP na internetu. V roce 2005 vznikla celoevropská síť pro DBSP (European Food Information Resource Network-EuroFIR, <http://www.eurofir.org>), v rámci které se podařilo vyvinout jednotný systém pro zpracování dat a jednotné vyhledávací rozhraní pro simultánní vyhledávání dat v národních DBSP.

Na území bývalého Československa se do r. 1945 používaly hlavně německé potravinové tabulky. První vědecky podložené Tabulky výživných hodnot potravin byly vydány v r. 1952 (reedice 1957 a 1965). V 70. - 80. letech minulého století byl koordinátorem a hlavním řešitelem projektu národní DBSP (Potravinová banka dat) Výzkumný ústav potravinářský v Bratislavě. Po rozdělení republiky v r. 1993 zůstala Potravinová banka dat v majetku Slovenské republiky. V České republice se problematice sběru a zpracování dat nekoordinovaně věnovala řada subjektů, např. Společnost pro výživu, jako vydavatel dnes již klasických Potravinových tabulek (1992⁽²⁾, 1993⁽³⁾), které byly základem řady dalších projektů, např. nutričního programu NUTRICOM⁽⁴⁾ nebo Tabulek složení potravin sestavených SZÚ pro účely analýzy Spotřebního koše potravin⁽⁵⁾. Některé projekty se zabývaly sběrem dat pro určité komodity, např. ovoce a zelenina⁽⁶⁾, mléčné výrobky⁽⁷⁾, fast food⁽⁸⁾.

Znovuobnovení agendy budování DBSP

V r. 2007 Ústav zemědělských a potravinářských informací (nyní součást Ústavu zemědělské ekonomiky a informací – ÚZEI) a Výzkumný ústav potravinářský, v.v.i. (VÚPP) iniciovaly zahájení projektu budování DBSP v ČR. Byla vypracována koncepce databáze, ve které byly definovány základní postupy a aktivity nezbytné pro iniciační fázi projektu (organizační struktura, zdroje dat, technologie a SW, zpřístupnění dat, mezinárodní spolupráce, propagace). Koordinace a organizace činností spojené s informačními a prezentačními službami a sběr dat z literatury byl v kompetenci ÚZEI, VÚPP se soustředil především na chemickou analýzu potravin a participaci na vývoji metodiky pro zpracování a dokumentaci dat.

V současnosti je projekt budování DBSP realizován v ÚZEI v rámci Tematického úkolu MZe. Generování nutričních dat pro databázi zajišťuje dodavatelský subjekt, který je vybírán formou veřejné soutěže. Dozor a gesci nad realizací projektu vykonává MZe, Úřad pro potraviny. Od r. 2010 je ÚZEI členem mezinárodní sítě EuroFIR.

Agenda projektu DBSP je zaměřena na sběr, kompilaci dat, jejich dokumentaci podle mezinárodního standardu EuroFIR. Podařilo se úspěšně implementovat systém tzv. úplné dokumentace hodnot, který je aplikován na každou potravinu zařazenou do databáze^{(9), (10)}. Systém zahrnuje zpracování dat v určených entitách (FOOD, COMPONENT, REFERENCE, VALUE),

povinných polích a povinného využívání speciálních deskriptorů EuroFIR. Součástí dokumentace je rovněž povinná indexace všech potravin vložených do databáze speciálním tezaurem pro popis potravin LanguaL (<http://www.langual.org>). Struktura databáze je plně kompatibilní s požadavky EuroFIR.

Při výběru zdrojů dat jsou zohledňovány možnosti, které jsou běžně používány v zahraničí: zdroje z literatury zahraniční i tuzemské, data získaná přímou analýzou potravin, výpočet podle interních algoritmů databáze, expertním odhadem (tzv. logické nuly) a data od výrobců (obaly, letáky, soubory dat poskytnutých výrobcem).

V databázi je dodržen princip dohledatelnosti zdrojů dat, tj. ke každé hodnotě zařazené do databáze je přiřazena citace zdroje dat. Ve spolupráci s EuroFIR se ÚZEI podílí na tvorbě repozitáře zdrojů dat pro DBSP v prostředí databáze PubMedCentral tvorbou bibliografických záznamů českých zdrojů dat.

Pro sběr dat byl definován výchozí soubor potravin a nutrientů, který může být podle nutnosti rozšířen nebo upraven. V současné době je sběr dat realizován prioritně pro nutrienty v rozsahu povinných výživových údajů podle aktuální evropské legislativy⁽¹¹⁾. Průběžně jsou doplňována data i pro ostatní nutrienty.

Vodítkem pro stanovení seznamu sledovaných potravin je Spotřební koš potravin pro ČR⁽⁵⁾. Do databáze byla rovněž zařazena data pro vybrané české tradiční potraviny analyzovaná v rámci projektu databáze, data získaná v rámci předchozích výzkumných projektů VÚPP pro potraviny ze skupiny fast food, netradiční obiloviny a syrové a tepelně zpracované brambory, luštěniny, rýži a těstoviny. V současnosti je pozornost zaměřena především na generování nutričních dat pro suroviny pro potravinářský průmysl (maso drůbeží, hovězí, vepřové, vejce a komodity rostlinného původu).

On-line verze DBSP

V r. 2010 byla na <http://www.czfcdb.cz> zpřístupněna on-line verze DBSP koncipovaná jako zdroj informací o složení potravin pro odbornou i spotřebitelskou veřejnost na národní úrovni. Návrh on-line aplikace zohlednil hlavní požadavky moderních on-line tabulek složení potravin: zveřejnění dat o složení vybrané potraviny v přehledné formě, vyjádření hodnot na 100 g jedlého podílu potraviny, přiřazení citace ke každé zveřejněné hodnotě, zpřístupnění nástrojů pro vyhledávání, zajištění mutace webu i v angličtině. Aplikace je přístupná zdarma.

On-line aplikace byla rozšířena o nové funkcionality, které byly v rámci webů národních DBSP zpřístupněny jako první v české on-line databázi: vložení fotogalerie do záznamu pro rozšíření vizuálního popisu potraviny, využití deskriptorů LanguaL k prohledávání databáze, zavedení vícekritériálního vyhledávání a možnost vložení odkazů na zdroje dat volně přístupné na internetu k citacím pro jednotlivé hodnoty⁽¹²⁾.

Základním prvkem on-line databáze je záznam potraviny, který se sestává ze dvou částí – popisu potraviny a tabulky hodnot (Obr. 1).

V části pro popis potraviny je uveden identifikátor potraviny v rámci databáze (A), název potraviny (v češtině, angličtině, případně latinský název - B), u většiny potravin fotografie (C) s možností vložit fotogalerii (D) dostupnou prostřednictvím odkazu pod fotografií, koeficient pro jedlý podíl (E) a informace o tom, že hodnoty jsou vyjádřeny ve 100 g jedlého podílu potraviny. Součástí popisu potraviny jsou i kódy a deskriptory LanguaL (F), které poskytují podrobnější popis potraviny z hlediska typu potraviny, výchozí suroviny, popisu technologické úpravy. Deskriptor ČESKÁ REPUBLIKA [R0515] je přiřazen pro typicky české potraviny. Obdobně jako v bibliografických databázích lze využít kódů pro vyhledání dalších potravin indexovaných zvoleným kódem (G).

V tabulce hodnot je uveden seznam 99 nutrientů, které jsou utříděny do šesti skupin. Tabulka je strukturovaná do pěti sloupců: název potraviny (CS nebo EN), mezinárodní identifikátor EuroFIR, jednotka, hodnota, identifikátor citace zdroje dat. Ke každé hodnotě je přiřazena citace zdroje dat dostupná přes identifikátor citace (H). Systém umožňuje prolinkování na plné texty zdrojů dat nebo na zahraniční databáze a další materiály přístupné zdarma na internetu (I).

FCDB ID 0157 **A**

Knedlík houskový, domácí **B**

Dumpling from wheat flour, yeast, homemade **C**

Popis potraviny kódy LanguaL

A0106 A0457 A0641 A0660 A0693 A0729 A0822 A1083 A1240
A1292 B1312 C0133 E0104 F0014 G0012 H0184 H0186 H0753
J0003 K0003 M0001 N0036 N0041 P0024 R0515 Z0109

ČESKÁ REPUBLIKA [R0515]
Zobrazit přiřazené deskriptory **F**

Obsah ve 100 g jedlého podílu **F** Koeficient pro jedlý podíl 1

Název nutrientu	Kód EuroFIR	Jednotka	Hodnota	Citace
Nutrienty základní				
Energie kJ	ENERC	kJ	840	00012
Energie kcal	ENERC	kcal	198	00012
Bílkoviny celkové [NCF:6.25]	PROT	g	7.5	00012
Dusík celkový	NT	g	1.2	00040
Lipidy celkové (tuky) [FACF:0.950]	FAT	g	1.4	00040

Fotogalerie

1 Vypsát po: 20

D

Další potraviny v databázi LanguaL **G**

ČESKÁ REPUBLIKA [R0515]

ID	Název potraviny
0001	Polévka bramborová, domácí
0002	Bramborák, domácí
0003	Pláčky bramborové, domácí
0004	Knedlík bramborový, domácí
0005	Knedlík bramborový, tuh
0006	Knedlík chlévový, domácí
0007	Škubánky z mlékem, domácí

Europe PubMed Central **I**

00040
Holasová M., Fiedlerová V., Málková H., Mašík R.: Dokumentace přípravy a nutriční hodnocení
Dokumentace nutričního hodnocení mléčných výrobků 2009 - VÚPP, VÚPP, Praha, 2009.

Annual report of the project: Centre for Food Composition and Analysis (FRI). Documentation and nutritional evaluation of flour type evaluation of milk products (CTX-C0070)

Abstract Citations BioEntities Rel

Holasova M, Fiedlerova V, Malikova H, Masik R. Food Research Institute Prague, Radvova 7, 102 31 Prague 10, Czech Republic. www.vupp.cz

Type: Report (lang: cze)

Abstract

This annual report of the Czech Centre for Food Composition and Analysis (FRI) contains the results of the nutritional evaluation of flour type evaluation of milk products (CTX-C0070). The report includes the results of the nutritional evaluation of flour type evaluation of milk products (CTX-C0070).

Obr. 1 Ukázka záznamu potraviny v české DBSP (vysvětlivky viz text výše).

Databázi lze prohledávat několika způsoby. Na hlavní stránce je k dispozici volba rychlého vyhledávání podle názvu potraviny. Z hlavního menu jsou dostupné další čtyři možnosti: podle abecedy (včetně funkce Vše pro vyfiltrování všech zařazených potravin), podle nutrientu (výstupem je seznam potravin obsahující zvolený nutrient, pokud jsou tato data dostupná v databázi), podle skupiny v třídění potravin podle klasifikace EuroFIR a pokročilé neboli více kriteriální vyhledávání (Obr. 2) s využitím deskriptorů LanguaL, názvu potraviny v češtině a angličtině, latinského názvu s možností vložit přídatný filtr pro zvolenou skupinu potravin.

Hledaný výraz: Česká republika Všechna pole

Hledaný výraz: R0515 Všechna pole

Hledaný výraz: Všechna pole

Skupina potravin: Všechny skupiny

Mléko, mléčný výrobek nebo analog mléka

Maso nebo masný výrobek

Mofské nebo podobné potraviny

Vejce nebo vaječný výrobek

Odeslat

Výsledek vyhledávání

Počet nalezených záznamů: 2

ID	Název potraviny
0129	Máslo pomazánkové
0105	Sýr, Olomoucké tvarůžky

Nové hledání

Obr. 2 Pokročilé vyhledávání v on-line DBSP. Ukázka vyhledávání potravin typických pro Českou republiku ze skupiny mléčných výrobků.

Integrace DBSP mezinárodních systémů

Zpracování dat podle mezinárodního standardu EuroFIR umožňuje začlenění databáze do jednotného vyhledávacího rozhraní pro vstup do 28 národních DBSP EuroFIR FoodEXplorer a nadstavbové aplikace EuroFIR FoodBasket pro výpočet nutričního složení potravin a pro hodnocení jídelníčků (<http://www.eurofir.eu>)

Závěr

Budování a správu Databáze složení potravin pro Českou republiku zajišťuje z pověření Ministerstva zemědělství Ústav zemědělské ekonomiky a informací. Hlavní náplní agendy je sběr dat, jejich dokumentace podle mezinárodního standardu a zpřístupnění pro širokou uživatelskou veřejnost prostřednictvím on-line verze databáze (<http://www.czfcdb.cz>), která je průběžně doplňována. V aktuální verzi databáze jsou zpřístupněna data pro 418 potravin. Projekt je realizován ve spolupráci s mezinárodní sítí pro databáze složení potravin EuroFIR.

Poděkování

Budování DBSP je podporováno z prostředků MZe. Některé aktivity byly podpořeny EuroFIR.

Literatura

- (1) CHURCH, S. M. EuroFIR Synthesis report No 7: Food composition explained. *Nutrition Bulletin*. 2009, roč. 34, č. 3, s. 250-272.
- (2) *Potravinové tabulky*. 1. vyd. Praha: Společnost pro výživu (ve spolupráci s Ministerstvem zemědělství ČR), 1992, 69 s. ISBN 80-851-2042-9.
- (3) *Potravinové tabulky*. 1. vyd. Praha: Společnost pro výživu (ve spolupráci s Ministerstvem zemědělství ČR), 1993, 66 s. ISBN 80-851-2044-5.
- (4) SPOLEČNOST PRO VÝŽIVU. Software NUTRICOM verze 3.0, 2001.
- (5) RUPRICH, J. (ed.). *Databáze nutričního složení potravin - Spotřební koš potravin pro ČR 1997*. 2004. <http://www.chpr.szu.cz/dbdata/foodcomp/nut2001.asp>.
- (6) KOPEC, K. *Tabulky nutričních hodnot ovoce a zeleniny*. Vyd. 1. Praha: ÚZPI, 1998, 72s. ISBN 80-861-5364-9.
- (7) DRBOHLAV, J., VODIČKOVÁ, M. *Tabulky látkového složení mléka a mléčných výrobků*. 1. vyd. Praha: ÚZPI, 2001, 85 s. ISBN 80-727-1005-2.
- (8) MASKOVA, E., FIEDLEROVA, V., HOLASOVA M., RYSOVA, J. Energy and nutrition value of selected delicatessen salads. *Czech Journal of Food Science*. 1999, roč. 17, č. 5, s. 176-181.
- (9) BECKER, W., MOLLER, A., IRELAND, J., ROE, M., UNWIN, I. and PAKKALA, H. *Proposal for structure and detail of a EuroFIR Standard on food composition data II: Technical Annex. Version 2008*. Danish Food Information. 2008, ISBN 978-87-92125-10-1.
- (10) MACHACKOVA, M., HOLASOVA, M., MASKOVA, E. Full value documentation in the Czech Food Composition Database. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2010, roč. 64, Suppl. 3, S64-S67.
- (11) Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011. In: *Úřední věstník Evropské unie*. 2011, L304/18.
- (12) MACHACKOVA, M., HOLASOVA, M., MASKOVA, E. The new on-line Czech Food Composition Database. *Food Chemistry*. 2013, roč. 140, č. 3, s. 533-538.

R 22**PŠENIČNO – JEČNÉ TĚSTOVINY S PŘÍDAVKY KONOPNÝCH PRODUKTŮ**

Hrušková M., Švec I., Hofmanová T.

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

Souhrn

Ječmen má ve srovnání s pšenicí, která je ve formě polohrubé těstářenské mouky nebo semoliny základní recepturní složkou těstovin, mnoho nutričních přínosů. Kromě vyššího obsahu vlákniny a beta-glukanů je přínosné, že ječná mouka má tmavší barvu a specifickou chuť. Zlepšení chuťových vlastností pšenično-ječných těstovin lze dosáhnout přidávkem různých forem konopí. Při laboratorní výrobě těstovin s ječmenem byly ověřeny varianty s obsahem 30 % hladké mouky a přídavky 4 odlišných konopných produktů (hladké mouky z konvenčního a bio semene po extrakci tuku, celozrnné mouky z loupaného a neloupaného semene). 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 jedno-vaječné s přidávkem konopných produktů v množství 5 a 10 % byly standardně lisovatelné s teplotou do 40°C. V sušeném stavu se přídavek 10 % vzorků z neloupaného semene a z hladké mouky po extrakci projevily větší deformací. Po uvaření vykazovaly těstoviny horší tvarovou stabilitu. Vaznost a bobtnavost ječných těstovin s konopím souvisela s recepturou a hodnoty byly srovnatelné s ječným druhem. Barevný odstín a vůni ječných těstovin lze hodnotit jako spotřebitelsky přijatelné. Chuťový vjem všech těstovin po uvaření byl popsán jako senzorycky standardní (bez typické ječné nebo konopné a nahořklé příchuti). Přídavky hladké mouky z lisované formy konopí z konvenční a bio produkce se průkazně nelišily. Analýzou složení vybraných druhů ječných těstovin byla potvrzena variabilita v obsahu bílkovin, vlákniny potravy a resistantního škrobu v závislosti na receptuře.

Klíčová slova: těstoviny, ječná mouka, konopí, vláknina, resistantní škrob

Úvod

Sušené těstoviny jako sytící potravina jsou při nízkém obsahu tuku zdrojem polysacharidů, bílkovin a vlákniny (Kruger *et al.* 1996, Pehle a Andrich 2006, Hamr 2007). Splňují požadavky zdravé výživy - mají nízký obsah sodíku, vyváženou skladbu sacharidů a nízký glykemický index. Pro inovaci sortimentu těstovin jsou přidávány různé netradiční plodiny s cílem zachování původního spotřebitelského charakteru. Přídavky se sleduje zvýšení obsahu zdraví prospěšných látek, např. vlákniny, resistantního škrobu aj. (Marconi 2001; Ugarčić-Hardi *et al.* 2007, Hrušková *et al.* 2007). Ječmen má ve srovnání s pšenicí vyšší obsah vlákniny (cca o 40 %). β-glukany endospermu a aleuronové vrstvy ovlivňují 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 a uvedený poměr ovlivňuje vaznost vody během vaření, tvar a celistvost těstovin. Bílkoviny se vyskytují v nižším množství, obsah kolísá od 7 do 10 %. Albuminy a globuliny jsou bohaté na lysin a threonin. Naopak prolamin, který se v ječmeni označuje jako hordein, jsou na lysin a threonin chudé, ale obsahují více kyseliny glutamové a prolinu (Newman a Newman 2008). Obsah lipidů v ječmeni je cca 2-4 %, což je srovnatelné s pšenicí. **Konopí seté** (*Cannabis sativa*) je pěstované ve dvou subspeciích a to ssp. *culta* a ssp. *indica*. Druhé jmenované se označuje jako konopí hašišné a je zakázanou surovinou pro možnost přípravy omamných látek (Perlín, 2002). Pro potravinářské užití lze použít celá semena (20-25 % bílkovin, 25-35 % tuků a 10-15 % polysacharidů), která je nutno předem zbavit slupku (Best, 2009). Semeno konopí je vhodnou surovinou pro výrobu oleje s vlastnostmi podobnými lněnému. Jeho přínosem je obsah cannabidiolu (CBD) s pozitivními účinky při pohybových obtížích. Dále

obsahuje n-6 a n-3 mastné kyseliny, jejichž poměr se považuje za nutričně optimální. Mezi další složky oleje patří fytosteroly a tokoferoly s účinkem vitamínu E (Ohr, 2009). Složení konopné mouky se liší podle použité suroviny (závisí na odrůdě a lokalitě pěstování), způsobu přípravy a odtučnění semene. Uvádí se zastoupení 30-33 % bílkovin, 7-13 % tuku a cca 40 % škrobu. Bílkoviny konopné mouky jsou typické tím, že cca dvě třetiny tvoří edestin, patřící mezi nízkomolekulární globuliny. Konopné produkty obsahují významné množství beta-karotenu a vitamínů B₁ a E. Z minerálních látek je přínosem vyšší obsah železa a zinku. Konopná mouka je přirozeně bezlepková, vhodná pro nemocné celiakii.

Cílem práce bylo vyvinout sortiment sušených těstovin s přidavkem mlýnských výrobků z ječmene a konopných produktů, posoudit vliv složení na jakostní znaky a senzorické vlastnosti po uvaření.

Materiál a metody

Těstoviny byly připraveny podle těstářenského pokusu VŠCHT Praha za použití lisu TR 70 (Korngold AG, Rakousko), předsušárny Sun P+ a vertikální sušárny Sun 450/2 (Mezos, ČR). Základní receptura a technologický postup popisuje Hrušková (2007). V práci byly ověřeny receptury jednovaječných těstovin s přidavky hladké ječné mouky (30 %, mlýn Křesín) a konopných produktů (K4-celozrnná mouka z loupáního semene, K5-celozrnná mouka z neloupáního semene, K6-hladká mouka z extrahováního semene z konvenční pěstování, K7-hladká mouka z extrahováního semene z bio produkce) v množství 5 a 10 % na polohrubou těstářenskou mouku (mlýn Delta Praha). Konopné mouky celozrnné byly připraveny na laboratorním šrotovníku KM 5001 (ČR) ze semen vypěstovaných firmou Hemp Production Chrašnice. Hladká mouka K6 pochází od téže firmy (odrůda Fedora 17) a bio K7 pochází z Německa (firma Hanf Natur). Všechny použité suroviny jsou z ročníku sklizně 2012. Těstoviny ve tvaru kolínek byly hodnoceny při lisování, po usušení a po uvaření podle interního postupu VŠCHT Praha. Vedle senzorického hodnocení (model pro očkovitost, barvu, vůni a chuť) byly stanoveny i objektivní charakteristiky vařených těstovin (vaznost, bobtnavost). Pro porovnání nutričního profilu těstovin s různým recepturním složením byl stanoven obsah bílkovin dle Kjeldhala (ČSN 56 0512-12), vlákniny potravy (AOAC 985.29), β -glukanů (AACC 32-23) a resistantního škrobu (AOAC 2002.02).

Výsledky a diskuse

Hodnocení senzorické jakosti v sušeném stavu

Pro výrobu těstovin s přidavkem ječné mouky a konopných komponent nepřekročila teplota během lisování doporučenou hodnotu 40 °C. Max. teplotu (38,9 °C) dosahoval vzorek T7-10 s 10 % přidavkem bio hladké mouky. Uvedený druh se vyznačoval tvarovou deformabilitou již v syrovém stavu. Těstoviny obohacené celozrnnou moukou z konopí (K4, K5) vykazovaly vyrovnaný tvar bez zlomů. Vzorky s hladkými moukami K6 a K7 měly při přidavku 10 % větší počet zlomů (hodnocení tvaru 4 a 2 body). Vyšší přidaná množství se projevují výskytem tmavších stipů, které ovlivnily vzhled a stejnoměrnost barvy sušeného výrobku.

Tab 1 zahrnuje znaky těstovin s 30 % přidavkem ječné a konopné mouky z odtučněného semene v sušeném stavu. Vzorky s přidanou celozrnnou moukou z loupáního semene mají ve všech znacích stejnou kvalitu jako standard (pšenično-ječný druh, výsledky neuvedeny). Fortifikací konopím je nejvíce ovlivněn tvar sušených těstovin a přidavek bio hladké mouky K7 měl v závislosti na přidaném množství výrazně negativní vliv. Těstoviny však byly při hedonickém popisu barvy hodnoceny jako přijatelné.

Hodnocení senzorické jakosti ve vařeném stavu

Při hodnocení pšenično-ječných těstovin po uvaření byla průměrná vaznost vzorku 116 %, tj. cca o 20 % méně než obvyklá hodnota pro pšeničné těstoviny. Vzorky s celozrnnými konopnými komponentami měly tento znak srovnatelné výše (110 a 117 %). Pro těstoviny s hladkými moukami

byla zjištěna vaznost průkazně vyšší (130 a 127 %). Bobtnavost těstovin s přidavkem konopných celozrnných mouk se také nelišila od nefortifikovaných, avšak těstoviny s hladkými produkty po extrakci tuku vykazovaly hodnoty v rozmezí 1,25-1,61. Schopnost více vázat vodu souvisí s deformací těstovin po uvaření, což se potvrdilo. Nejvyšší tvarovou stabilitu si zachovaly těstoviny s přidavkem celozrnných mouk z konopí bez ohledu na přidané množství. Hodnocení tvaru a celistvosti po uvaření se proti pšenično-ječným těstovinám zlepšilo o 1 bod. Stejně jako v sušeném stavu byly varem nejvíce deformovány těstoviny obohacené bio hladkou moukou. Z hlediska hodnocení chuti nebyl v žádném vzorku s konopím patrný nahořklý vjem typický pro ječmen. Vůně pomocí intenzitní stupnice byla v celém soboru popsána jako typická (po konopné surovině) a plná. Barva těstovin s moukou z extrahovaných semen konopí měla výrazně tmavší odstín než vzorky bez fortifikace a byla ovlivněna použitými surovinami. Vyšší nerovnoměrnost odstínu byla patrná pro vzorky s přidavky konopné mouky z neloupaných semen.

Tab. 1. Hodnocení ječných těstovin s konopnými moukami K6 a K7

Znaky sušených ječných fortifikovaných těstovin					
Vzorek	Objem těstovin	Tvar	Povrch	Barva	Očkovitost
M	82	5	5	5	5
M+J	82	5	5	5	5
M+J+5% K6	82	5	5	5	5
M+J+10% K6	82	4	5	5	4
M+J+5% K7	82	4	5	5	4
M+J+10% K7	82	2	5	2	3

Nutriční složení konopných těstovin

Ze souboru pšenično-ječných těstovin s konopím byly pro recepturu (30% množství ječmene, 10 % konopných komponent) stanoveny analytické znaky - obsah bílkovin, rezistentního (RS) škrobu, β -glukanů a vlákniny potravy. Jako základ byl analyzován vzorek pšenično-ječných těstovin bez fortifikace. Obsah bílkovin byl stanoven pomocí Kjeldahlovy metody a nejnižší hodnotu vykazují těstoviny pouze s přidavkem hladké ječné mouky (11,3 %). Přidavky konopných produktů bylo zjištěno zvýšení o 9-23 %. Množství rezistentního škrobu naopak s přidavky konopí klesá, v případě hladkých mouk téměř o polovinu. Obsah β -glukanů v pšenično-ječných těstovinách činil 1,2 % a přidavky hladkých konopných mouk klesl na 0,8 %. Vyšší obsah byl zjištěn pro těstoviny s konopnou celozrnnou moukou z neloupaného semene (1 %). V souboru sledovaných recepturních variant není zahrnuta skutečnost, že obsah těchto látek výrazně ovlivňuje zastoupení v ječmeni (Knuckles *et al.*, 1997). Obsah vlákniny potravy je uveden v Tab.2. Těstoviny s ječmenem a konopnými produkty obsahují nejvíce celkové vlákniny (TDF), kterou tvoří ze 2/3 nerozpustný podíl. Rozdíly jednotlivých druhů vlákniny způsobené testovanými typy konopných produktů nejsou průkazné.

Tab. 2 Obsah vlákniny

Vzorek	IDF (%)	SDF (%)	TDF (%)
P+ 30% J	2,49	1,41	3,72
P+30%J+10%K4	5,00	2,63	6,72
P+30%J+10%K5	4,72	2,66	6,85
P+30%J+10%K6	4,68	2,64	6,72
P+30%J+10%K7	4,72	2,60	6,70

Závěr

Ve vzorcích těstovin obohacených mlýnskými výrobky z ječmene byly ve většině sledovaných znaků nejlépe hodnoceny druhy s přísadkou celozrnných konopných mouk. Přídavek 5 % mouky K4 má pozitivní vliv na tvar a celistvost ječných těstovin po uvaření. Z hladkých druhů mouky se jako vhodnější jevil přídavek komerčního druhu K6. Vysoká očkovitost není v případě speciálních druhů těstovin vnímána v dnešní době negativně, ale odlišuje jednotlivé recepturní varianty. V rámci zdravé výživy jsou spotřebitelé ochotní akceptovat rozdílný vzhled těstovin, pokud značí nutriční přínos výrobku, avšak za předpokladu přijatelného vzhledu a chuťového vjemu po uvaření. Přísadky konopných produktů byl docílen určitý stupeň maskování typické ječné příchuti, jak uvádí práce Sinesio *et al.* (2008).

Literatura

- Best D. (2009): Whole Seed-better than Whole Grain? *Cereal Foods World*, 54 (5), 226-228.
- 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 přísadkou netradičních plodin. *Mlýnářské 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.
- 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. Dobřeovice, Rebo Production CZ. str. 19-66.
- Perlín C. (2002): Konopí jako potravina, *Výživa a potraviny*, 121-122
- Ohr L. M. (2009): Matters of the Heart, *Food Technology*, 63 (6), 123-124.
- 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., Jukić 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 QI111B053.

R 23**CHARAKTERISTIKY KOMPOZITNÍ MOUKY S JEČMENEM A KONOPÍM**

Švec I., Hrušková M.

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

Souhrn

Ve srovnání s pšeničnou obsahuje ječná mouka vyšší podíl beta-glukanů a vlákniny. Výrobky s podílem ječné mouky jsou typické specifickou příchutí, kterou je možno korigovat přidávkou různých forem konopného semínka. Kompozitní mouky byly tvořeny z premixu hladké mouky pšeničné a ječné v poměru 70:30 a dvou vzorků celozrnné konopné mouky (K4 z loupaného, K5 neloupaného semínka; 5 a 10%). Charakteristiky pšeničné mouky, pšenično-ječného premixu a směsí s konopím byly testovány na farinografu, extenzografu a amylografu, a pekařským pokusem pro pečivo. Vaznost vody se zvýšila pouze přidávkou ječné mouky, vliv obou konopných mouk byl negativní. Stupeň změknutí byl v případě premixu dvojnásobný v souvislosti se „zředěním“ lepkové struktury ječnými bílkovinami, zatímco obě formy konopné mouky soudržnost těsta průkazně neovlivnily. Extenzografický test potvrdil změny viskoelastických vlastností těsta, které odlišily testované přísady konopné mouky. Vzorkem K4 se zhoršení pružnosti vlivem ječné mouky částečně kompenzovalo, vzorek K5 naopak rozdíl prohloubil. Viskozita suspenzí byla nižší pro premix, ovšem přísady konopných komponent se hodnoty opět zvýšily (zejména pro K4). Podobný trend platil i pro pečivo – vyšší měrné objemy měly vzorky s K4 v receptuře. Pro přísadu 10 % obou forem konopí byl zjištěn vyšší objem pečiva, patrně vlivem tukové složky. Klenutost pečiva se všemi přísadami snížila, ale mezi fortifikovanými výrobky nebyl v tomto ohledu výrazný rozdíl. Pšenično-ječné pečivo mělo vlhčí střídu a mírně cizí, stále přijatelnou příchutí. Při 10% zastoupení K4 byla střída charakteristická nasládlou příchutí, která nebyla v případě K5 patrná. Naopak částice z obalových vrstev znamenaly jiný senzorický profil s náznakem nahořklé chuti.

Klíčová slova: kompozitní mouky, ječmen, konopí, reologické hodnocení

Úvod

Pro inovaci sortimentu pekařských výrobků jsou často využívány netradiční plodiny s cílem zvýšení nutriční hodnoty při zachování původního spotřebitelského charakteru. Fortifikací se sleduje např. zvýšení obsahu zdraví prospěšných látek jako je vláknina, resistantní škrob aj. (Best, 2009, Ohr, 2009). Ječmen má ve srovnání s pšenicí, která je ve formě hladké mouky světlé nebo polosvětlé základní recepturní složkou pečiva, mnoho zdravotních přínosů. Ve srovnání s pšenicí má vyšší obsah vlákniny (cca o 40 %) a β -glukanů, které příznivě ovlivňují 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. Uvádí se, že konzumace výrobků 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 a uvedený poměr zvyšuje vaznost vody. Bílkoviny se vyskytují v nižším množství, obsah kolísá od 7 do 10 %. Albuminy a globuliny jsou bohaté na lysin a threonin. Naopak prolaminy, které se v ječmeni označují jako hordeiny, jsou na lysin a threonin chudé, ale obsahují více kyseliny glutamové a prolinu. Obsah lipidů v ječmeni je cca 2-4 %, což je množství srovnatelné s pšenicí. (Newman a Newman 2008). Kromě složení je přínosné, že ječná mouka má tmavší barvu, avšak specifickou chuť. Zlepšení chuťových vlastností pšenično-ječných pekařských výrobků lze dosáhnout např. přidávkou různých forem konopí.

Konopí seté (*Cannabis sativa*) je pěstované ve dvou subspeciích a to ssp. *culta* a ssp. *indica*. Druhé jmenované se označuje jako konopí hašišné. Z důvodů možného zneužití pro přípravu omamných látek je zákonem limitovaná distribuce pouze pro léčebné účely (Perlín, 2002). Pro potravinářské užití lze použít celá semena (20-25 % bílkovin, 25-35 % tuků a 10-15 % polysacharidů), která je vhodné předem zbavit slupek (Best, 2009) nebo hladké mouky. Semeno konopí je vhodnou

surovinou pro výrobu oleje s vlastnostmi podobnými lněnému. Přínosem je obsah cannabidiolu (CBD) s pozitivními účinky při pohybových obtížích (Ohr, 2009). Složení konopné mouky získané drcením pokrutin po lisování oleje se liší podle použité suroviny (závisí na odrůdě a lokalitě pěstování), způsobu přípravy a odtučnění semene. Uvádí se zastoupení 30-33 % bílkovin, 7-13 % tuku a cca 40 % škrobu. Bílkoviny konopné mouky jsou typické tím, že cca 2/3 tvoří edestin, patřící mezi nízkomolekulární globuliny. Konopné produkty obsahují významné množství beta-karotenu a vitamínů B₁ a E. Z minerálních látek je přínosem vyšší obsah železa a zinku. Konopná mouka je přirozeně bezlepková, vhodná pro nemocné celiakii.

Cílem práce bylo posoudit reologické vlastnosti kompozitních směsí z pšeničné a ječné mouky s přidavkem celozrnných konopných produktů a posoudit vliv složení na jakostní znaky a senzorické vlastnosti pečiva.

Materiál a metody

V práci byly hodnoceny kompozitní směsi z hladké pšeničné a ječné (30 %) mouky (mlýn Delta Praha res., mlýn Křesín) a konopných produktů (K4-mouka z loupavého semene a K5 neloupavého semene) v množství 5 a 10 %. Konopné celozrnné mouky byly připraveny na laboratorním šrotovníku KM 5001 ze semen produkce firmy Hemp Production Chrástice. Složení kompozitních vzorků je vyjádřeno obsahem bílkovin, Zelenyho sedimentační hodnotou a číslem poklesu. Změny vlastností moučné suspenze, resp. nefermentovaného těsta byly sledovány pomocí amylografu, farinografu, extenzografu a mixolabu. Rozbory byly provedeny podle standardizovaných postupů (ICC126, ISO 5530-1, ISO 5530-2, ICC 173). Pečivo bylo připraveno a hodnoceno podle interních postupů VŠCHT Praha.

Výsledky a diskuse

Charakteristiky kompozitních vzorků

Obsah bílkovin stanovený podle Kjehldala (ČSN 56 05 12-12) je přidavky konopné mouky mírně zvýšen ve srovnání s pšenično-ječným základem. Podle **Tab. 1** se však kvalita bílkovin z pekařského hlediska snižuje s rostoucí výší přidavku a není ovlivněna typem. Z hodnoty Zelenyho testu pro pšeničnou mouku (44 ml) je patrný pokles při 10 % množství celozrnné mouky z konopí téměř na polovinu (23 ml). Číslo poklesu jako míra poškození škrobu také pro testované kompozitní směsi mírně klesá ve srovnání se vzorky pšeničné mouky světlé nebo pšenično-ječné směsi.

Tab. 1. Vlastnosti kompozitní směsi

Vzorek	Číslo poklesu (s)	Zelenyho (ml)	Bílkoviny (%)
M	317	44	13,13
M+J	294	33	12,36
M+J+5 % K4	285	28	13,03
M+J+10% K4	271	23	13,88
M+J+5 %K5	282	28	12,90
M+J+10% K5	273	23	13,33

Reologické chování kompozitních vzorků

Vaznost vody se podle hodnocení na farinografu mírně zvýšila přidavkem 30 % ječné mouky, vliv obou konopných mouk byl negativní. Snížení o cca 7 % způsobil vyšší přidavek celozrnné mouky K4. Doba vývinu těsta nebyla fortifikací ovlivněna, zatímco stabilita vůči přehnětí se zkrátila téměř na polovinu ve srovnání s pšeničnou moukou. V případě kompozitních směsí byl stupeň změknutí dvojnásobný v souvislosti se „zředěním“ lepkové struktury ječnými bílkoviny, zatímco obě formy konopné mouky soudržnost těsta průkazně neovlivnily. Extenzografický test naznačil

změny viskoelastických vlastností pšeničného těsta, které mírně odlišily testované formy konopné mouky. Vzorkem K5 se zhoršení pružnosti přidavkem ječné mouky částečně kompenzovalo, vzorek K4 naopak snížení prohloubil. Pokles tažnosti se výrazněji projevil v případě delší doby odležení těsta. Podle extenzografické energie je patrné snížení pekařské kvality již přidavkem ječné mouky a vliv konopných komponent nebyl průkazný podle druhu ani přidaného množství.

Viskozita suspenzí podle měření na amylografu (**Tab. 2**) byla mezi testovanými vzorky málo variabilní, ale max. bylo nejvyšší pro pšeničnou mouku. Hodnota odpovídá ideálnímu stavu poškození škrobu pro pekařské užití. Z tohoto pohledu nedošlo vlivem fortifikace k negativní změně. Rozdíly vlivem kombinace ječné mouky s konopím nejsou v rámci chyby měření průkazné.

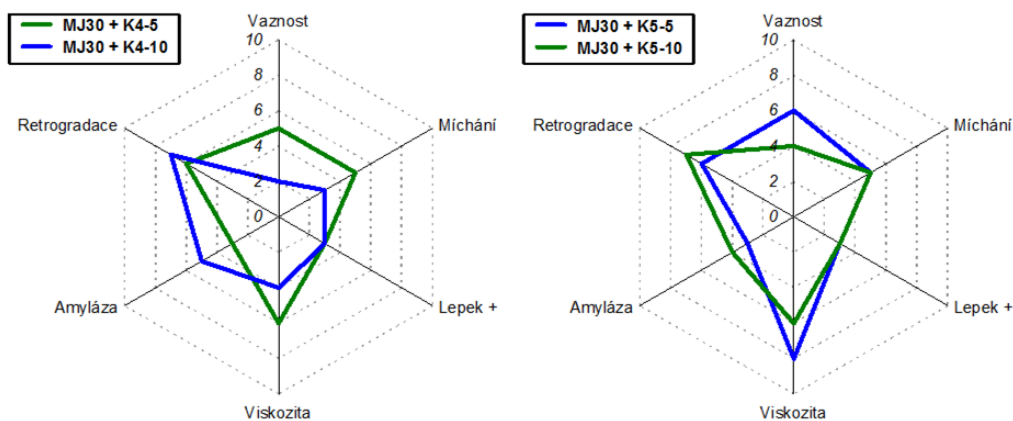
Tab. 2. Amylografické chování kompozitní směsi

	Teplota počáteční	Teplota při .max.	Max.viskozita
M	58,0	86,5	580
M30%JM	58,0	77,5	460
M30%JM 5%K4	56,5	80,5	490
M30%JM 10%K4	59,5	86,5	510
M30%JM 5%K5	58,0	80,5	460
M30%JM 10%K5	58,0	83,5	470

Chování těsta na mixolabu (ICC 173) je založeno na popisu konzistence během hnětení při teplotním režimu 30-90⁰ C. Nejprve je při konstantní teplotě 30⁰ C mouka přidavkem vody hydratovaná na optimální konsistenci těsta (1,1 Nm). Následuje zahřívání na 90⁰ C rychlostí 4⁰ C/min, prodleva 15 min a chlazení na 50⁰ C stejným teplotním gradientem jako při zahřívání. Během zkoušky je měřena konzistence těsta a registrovány změny vlivem nastaveného teplotního profilu. Výsledné křivky popisuje absorpce vody a 5 hodnot torzní síly (C1-C5), které odpovídají vlastnostem bílkovinné a škrobové složky mouky. Měření na mixolabu byly získány odlišné křivky kompozitní mouky s konopnými komponentami K4 a K5. **Obr. 1.** znázorňuje charakteristiky lepkové a škrobové složky popsané 6 uzančnými charakteristikami získanými transformací křivek z mixolabu. Přidávky celozrnné mouky K4 se projevíly změnou vaznosti vody a rozdílným chováním těsta při standardní přípravě (znak „míchání“). Vyšší koncentrace způsobila průkaznější změny ve vlastnostech škrobu ve fázi zahřívání. Nejvyšší rozdíly v hodnotě torzní síly (1,85 a 1,69 Nm) vlivem koncentrace byly zjištěny pro C3 (odpovídá znaku „viskozita“). Přídavek celozrnné mouky K5 se projevil odlišným profilem popisujícím změny konzistence při zahřívání a je zachován průkaznější vliv na chování škrobových složek kompozitní směsi. Výše přídavku se projevíla méně ve vaznosti vody při adaptované hydrataci a naopak průkazně ve znaku „míchání“. Křivky z mixolabu se pro různou výši přídavku nejvíce lišily v torzní síle C3 (20,3 a 1,86).

Pekařský pokus s kompozitními moukami

Měrný objem i tvar pšeničného pečiva z laboratorního pokusu lze označit za standardní. Přidavkem 30 % ječné mouky došlo ke snížení měrného objemu o cca 40 %. Přídavek celozrnné konopné mouky měl naopak pozitivní vliv (zvýšení o 1/3), zatímco pro přídavek K5 nebyla změna měrného objemu proti pšenično-ječnému pečivu průkazná. Tvar pečiva ze všech testovaných kompozitních směsí byl méně klenutý. (pokles v/d z 0,61 na 0,54-0,57). Výrobky s přídavkem konopných produktů se vyznačují příjemnou světlejší barvou kůrky a odstín střídy se přidaným množstvím K5 stupňuje (vliv tmavých stipů). Sensorické hodnocení pšenično-ječného pečiva s konopnými komponentami lze považovat ve všech případech za standardní, chuťově přijatelnější ve srovnání s výrobky pouze z pšeničné a ječné mouky. Přidávky celozrnné konopné mouky z neloupaného semene se projevíly vyšší hutností střídy, zatímco přídavek mouky z loupání konopí působil pozitivně - pružnost byla vyšší než v případě pšenično-ječného pečiva.



Obr.1 Popis chování vzorků kompozitní směsi na mixolabu

Závěr

V pekárenském oboru patří pšeničné mouky k základním složkám a sledování jejich reologických vlastností je v současné době nedílnou součástí jakostní deklarace. V souvislosti s požadavky na "zdravější" pekařské výrobky se zvyšuje uplatnění mouky z netradičních plodin a dopady na technologické chování se sledují při navrhování nových receptur.

Pomocí základních reologických přístrojů bylo pro kompozitní směsi pšeničné a ječné mouky s konopnou popsáno chování při přípravě těsta a jeho deformaci. Vedle reologických přístrojů firmy Brabender (farinograf, extenzograf a amylograf) byl testován v cereálním oboru nově užívaný mixolab Chopin. Průkazný a spíše negativní vliv změny složení byl potvrzen při zkouškách na farinografu a extenzografu. Pekařským pokusem bylo naopak zjištěno, že přídavek celozrnné mouky z loupaného konopí má pozitivní vliv na objem a chuťové vlastnosti pšenično-ječného pečiva.

Literatura

- Best D. (2009): Whole Seed-better than Whole Grain? *Cereal Foods World*, 54 (5), 226-228.
 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.
 Ohr L. M. (2009): Matters of the Heart, *Food Technology*, 63 (6), 123-124.
 Newman RK., Newman C.W. (2008): Barley for food and health: science, technology and products. John Wiley and Sons, Inc. Hoboken, New Jersey, USA.
 Perlín C. (2002): Konopí jako potravina, *Výživa a potraviny*, 121-122

Práce byla vypracována v rámci projektu QI 111B053.

R 24**VYUŽITIE INTERNÉHO ŠTANDARDU PRI KVANTIFIKÁCII ALERGÉNOV V POTRAVINÁCH POMOCOU REAL-TIME PCR**

Janská V., Piknová L., Kuchta T.

Výskumný ústav potravinársky, Bratislava

Naša práca sa zaoberá vývojom metódy na princípe polymerázovej reťazovej reakcie s priebežným monitorovaním fluorescencie (real-time PCR), ktorá nám bude slúžiť na kvantitatívnu analýzu vybraných zložiek potravín (orechov, ako potencionálnych alergénov) s použitím interného štandardu. Polymerázová reťazová reakcia (PCR) je molekulárno-biologická metóda, ktorá umožňuje identifikáciu špecifických úsekov DNA v rôznych vzorkách vrátane potravín. Aplikáciu PCR na kvantitatívnu analýzu potravín komplikuje nízka výťažnosť amplifikovateľnej DNA z potravinových vzoriek a obsah látok, ktoré môžu inhibovať PCR. Pri vhodnom usporiadaní real-time PCR môžeme použiť koncept interného štandardu. Aplikáciou interného štandardu sme dosiahli korekciu výsledkov a nepresností, ktoré môžu byť spôsobené pri extrakcii a amplifikácii DNA.

Úvod

Orechy sú obľúbenou zložkou náplní pekárenských a cukrárenských výrobkov v našej krajine. Zároveň orechy patria medzi potencionálne alergény, čo predstavuje zdravotné riziko pre spotrebiteľa. Alergény sa môžu v potravinách vyskytovať aj ako náhrada drahších potravín pri falšovaní, alebo sa môžu dostať do potravín sekundárnou kontamináciou počas výroby. Označovanie alergénnych zložiek potravín je povinné, je predpísané *Smernicou európskeho parlamentu a rady 2003/89/ES z dňa 10. Novembra 2003, ktorou sa mení a dopĺňa smernica 2000/13/ES o označovaní zložiek prítomných v potravinách*. Preto sme sa zamerali na vývin analytickej metódy pre špecifickú detekciu orechov, založenú na real-time polymerázovej reťazovej reakcie (PCR).

Navrhli sme metódu ktorá využíva tzv. duplexnú real-time PCR (v jednej reakcii sa súčasne amplifikujú dva produkty pri použití dvoch odlišných fluorescenčných farbív). Jedným PCR produktom je špecifický amplikón a druhým je amplikón interného štandardu v našom prípade je to DNA makadámových orechov.

Materiál a metódy

Lieskové orechy, makadámové orechy sme získali z maloobchodných sietí v Bratislave. Pekárenské výrobky a oplátky s lieskovo-orieškovou náplňou sme získali z maloobchodnej siete zo Slovenska, Českej republiky, Maďarska a Rakúska. Orechy sme homogenizovali pomocou mlynčeka (HGB2WTS3 (Waring, Torrington, Connecticut, USA)). Zo vzoriek pekárenských výrobkov a oplátiek sme odobrali orechovú náplň, ku ktorej sme pridali zhomogenizované makadámové orechy (interný štandard).

Izolácia DNA

DNA bola izolovaná na princípe chaotropickej extrakcie na tuhej fáze pomocou NucleoSpin Food kit (Macherey-Nagel, Nemecko). Extrahovaná DNA bola kvantifikovaná fluorimetricky pomocou Quant-iT PicoGreen kit (Invitrogen Molecular Probes, Eugene, Oregon, USA).

Polymerázová reťazová reakcia (PCR)

Využili sme real-time PCR zameranú na detekciu lieskových orechov a makadámových orechov (zmes primérov a sondy na detekciu lieskových orechov, makadámových orechov). Reakčnú zmes sme napipetovali do jamiek platne pre PCR po 23 µl. Do jamiek platne s pripravenou reakčnou zmesou sme pridali 22 µl izolovanej DNA z jednotlivých vzoriek na konečný objem 25 µl. PCR bola vykonaná v cyklery Model 7900 real-time PCR (Applied Biosystems) s uvedeným teplotným programom, v ktorom trvanie úvodnej denaturácie závisí od použitej termostabilnej DNA polymerázy.

Krok		teplota	čas
Úvodná denaturácia		95 °C	2 min
55 cyklov	denaturácia	95 °C	15 s
	anelácia + polymerizácia	60 °C	60 s

Prahové hodnoty tzv. threshold cyclov (C_t) boli vypočítané pre jednotlivé vzorky interným softvérom prístroja a pomocou ručného nastavenia fluorescenčného prahu na hodnotu 2,0 pre všetky sondy.

Výsledky

Výsledné hodnoty C_t sme odčítali ($C_t(\text{špecifická DNA}) - C_t(\text{interný štandard})$). Zo závislostí rozdielov sme zostrojili kalibračné čiary. Získali sme lineárnu závislosť. Ak sme dosiahli kritické hodnoty, tak práve tie boli spresnené aplikáciou interného štandardu. Nami navrhnutá metóda na princípe real-time PCR reakcie preukázala využiteľnosť pri kvitatívnych analýzach alergénov v potravinách.

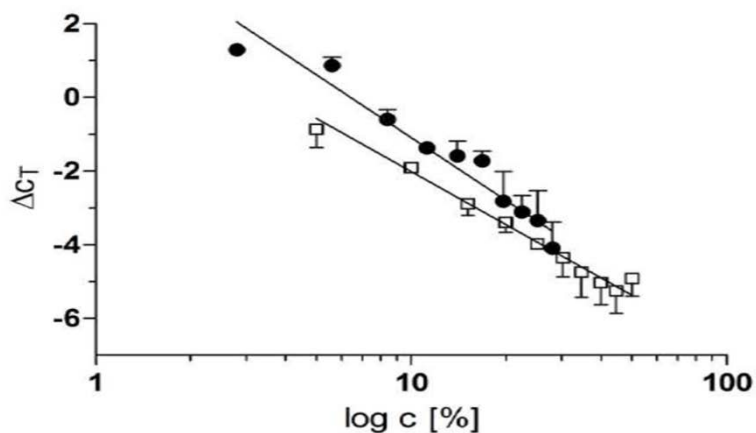
Tabuľka 1 koláče s lieskovoorieškovou náplňou

vzorka	Krajina pôvodu	ΔC_t	Obsah lieskovcov (%, w/w)	
			stanovené	deklarované
Lieskovoorieškový koláč 1	Rakúsko	0,85	15,9	20
Lieskovoorieškový koláč 2	Rakúsko	1,41	14,3	9,3
Lieskovoorieškový koláč 3	Rakúsko	1,66	13,6	8
Lieskovoorieškový koláč 4	Rakúsko	0,87	15,8	11*
Lieskovoorieškový koláč 5	Česká republika	-0,54	20,6	20
Lieskovoorieškový koláč 6	Česká republika	-1,27	23,7	20
Lieskovoorieškový koláč 7	Maďarsko	8,42	3,8	25
Lieskovoorieškový koláč 8	Slovensko	0,21	17,9	40
Lieskovoorieškový koláč 9	Slovensko	0,09	18,3	25
Lieskovoorieškový koláč 10	Slovensko	-2,62	30,5	18
Lieskovoorieškový koláč 11	Slovensko	-0,97	22,4	40
Lieskovoorieškový koláč 12	Slovensko	8,83	3,6	Nedeklarované
Orieškový závin 1	Rakúsko	10,38	2,7	11
Orieškový závin 2	Rakúsko	3,20	10,2	Nedeklarované
Orieškový rožtek 1	Rakúsko	4,12	8,6	11
Orieškový rožtek 2	Rakúsko	2,53	11,6	11

* môže obsahovať aj iné druhy orechov

Tabuľka 2 oplátky s lieskovoorieškovou náplňou

vzorka	Krajina pôvodu	ΔcT	Obsah lieskovcov (%, w/w)	
			stanovené	deklarované
Orieškové oplátky 1	Rakúsko	-0,53	4,5	11
Orieškové oplátky 2	Rakúsko	-2,34	11,2	9
Orieškové oplátky 3	Rakúsko	-1,10	6,0	8
Orieškové oplátky 4	Chorvátsko	-3,89	24,5	20
Orieškové oplátky 5	Česká republika	2,26	1,1	3,2
Orieškové oplátky 6	Česká republika	-0,07	3,6	2,7
Orieškové oplátky 7	Česká republika	2,79	0,8	0,8
Orieškové oplátky 8	Česká republika	2,89	0,8	0,7
Orieškové oplátky 9	Nemecko	0,84	2,3	13
Orieškové oplátky 10	Nemecko	2,80	0,8	8
Orieškové oplátky 11	Nemecko	1,93	1,3	8
Orieškové oplátky 12	Nemecko	2,10	1,2	6
Orieškové oplátky 13	Nemecko	0,05	3,4	3
Orieškové oplátky 14	Taliansko	3,88	0,4	6
Orieškové oplátky 15	Srbsko	1,5	1,6	2,3
Orieškové oplátky 16	Slovensko	1,31	1,8	11
Orieškové oplátky 17	Slovensko	12,03	0,008	7,5
Orieškové oplátky 18	Slovensko	-3,73	22,6	7
Orieškové sušienky 1	Česká republika	-1,51	7,3	1,5
Orieškové sušienky 2	Portugalsko	1,17	1,9	nedeklarované



Obr. 1 Kalibračné čiary pre koláče s lieskovoorieškovou náplňou (krúžky) a lieskovcové pasty, oblátky (štvorce). Body predstavujú priemerné výsledky zo 6 opakovaní

R 25**MYKOTOXINY V OBILOVINÁCH A RYCHLOTESTY PRO STANOVENÍ DEOXYNIVALENOLU**

Vepříková Z., Slavíková P., Džuman Z., Fenclová M., Zachariášová M., Hajšlová J.

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

Kvalita zemědělské produkce je z hlediska její nezávadnosti významně ovlivňována výskytem mikroskopických vláknitých hub a jejich produktů, mykotoxinů. Mezi nejvíce náchylné komodity patří především cereálie, které mohou být kontaminovány mykotoxiny jak v průběhu vegetace, tak při nevhodném skladování. Toxiny produkované rodem *Fusarium* patří v našich klimatických podmínkách k těm nejběžnějším. DON je celosvětově nejčastěji se vyskytující zástupce fusariových toxinů v cereáliích a cereálních výrobcích, a bývá proto považován za marker mykotoxinové kontaminace obilovin. Značnou oblibu v posledních letech získávají různé rychlotesty založené na principu plošné imunochromatografie (Lateral Flow Immuno-Assays) sloužící především pro screeningové vyšetření přítomnosti mykotoxinů. Tyto testy se čím dál častěji začínají využívat v potravinářské praxi pro rutinní a rychlou kontrolu surovin i finálních výrobků. Jejich hlavními přednostmi jsou zejména rychlost, relativně nízká cena a snadnost použití v běžném provozu (terénu), a to bez nutnosti speciálního vybavení a podmínek. U těchto testů navíc odpadá potřeba obsluhy odborným personálem. Stejně jako u jiných imunoafinitních metod, i zde je velmi pravděpodobné riziko nadhodnocení získaných výsledků vůči přesným instrumentálním metodám jako je např. LC-MS, a to především díky křížové reaktivitě (cross-reaktivita) se strukturně podobnými látkami matrice nebo samotnými mykotoxiny. V nabídce firem jsou ke stripům obvykle nabízeny i různá digitální čtecí zařízení, díky kterým je zajištěno stanovení bez subjektivního vlivu pracovníka.^{1, 2}

Prezentovaná studie byla zaměřená na posouzení mykotoxinové kontaminace obilnin (pšenice a žito), které jsou běžně zpracovávány v mlýnech a na porovnání komerčně dostupných rychlotestů určených pro stanovení deoxynivalenolu v obilovinách. Současně byla ke stanovení DON využita metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovým hmotnostním spektrometrem typu iontová past (U-HPLC-MS/MS), která je považovaná za kontrolní, přesnou a citlivou metodu pro stanovení mykotoxinů v cereáliích.

Standardy a chemikálie

Standardy mykotoxinů byly zakoupeny u různých firem, konkrétně:

- i) u firmy Dynex s.r.o. (Buštěhrad, ČR) 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, ergokornin, ergokorninin, ergokryptin, ergokryptinin, agroklaavin)
 - 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), penitremu A, roquefortinu C
- Organická rozpouštědla použitá při přípravě vzorků a separaci (acetonitril, methanol) byly dodány firmou Sigma–Aldrich (Taufkirchen, Německo).

VZORKY

V rámci spolupráce s firmou Goodmills Česko a. s. (do konce roku 2012 Unimills a. s.), která provozuje na území České republiky 4 mlýny: Delta mlýny v Kyjově, Litoměřicích, Mladé Boleslavi a v Pardubicích a vlastní skladovací prostory v Kopidlnu, byly přijaty série vzorků pšenice a žita z roku 2011 a 2012. Jednalo se o vzorky nabídkové i určené ke zpracování ve mlýně. Soubor obsahoval celkem 245 vzorků z toho 195 odběrů pšenice a 50 žita. Vybrané pozitivní vzorky obilnin na přítomnost DON byly následně využity v rámci práce s rychlotesty, kdy byl pro každý rychlotest i režim měření vzorek obilnin zpracováván zvlášť.

Testované rychlotesty pro stanovení DON pocházely od firem i) R- Biopharm AG (Německo) - testy RIDA® QUICK DON, ii) EnviroLogix (USA) - test QuickScan, iii) Charm Sciences, Inc. (USA) - test Charm ROSA.

Příprava vzorku

Veškeré vzorky cereálií byly před samotnou extrakcí pečlivě homogenizovány na laboratorním mlýnku. Před odebráním extrahovaného podílu, byl celý namletý objem důkladně promíchán. 2g vzorku cereálie byly naváženy do centrifugační kyvety (50 ml), následoval přídatek 10 ml roztoku 0,2% kyseliny mravenčí ve vodě. Vzorek se protřepe, uzavře a nechá 30 min stát z důvodu nabobtnání matrice. Ke vzorku s vodou se poté přidalo 10 ml acetonitrilu a následovala extrakce na laboratorní třepačce po dobu 30 min. Do kyvety bylo přidáno MgSO_4 (4 g) a NaCl (1 g) a vzorek byl opět intenzivně třepán v ruce po dobu 3 min (díky exotermní reakci solí s vodou se vzorek samovolně zahřival). Takto připravený vzorek byl centrifugován po dobu 5 min při otáčkách 10.000 RPM. Po odstředění byl z horní acetonitrilové vrstvy odebrán vzorek (cca 1,5 ml) pro přečištění pomocí mikrofiltu (centrifugace 2 min, 5.000 RPM). Takto připravený vzorek byl převeden do vialky a připraven k analýze. Výsledný obsah matrice v extraktu byl 0,2 g/ml. Vzorky ve vialkách byly před analýzou skladovány při -18 °C.

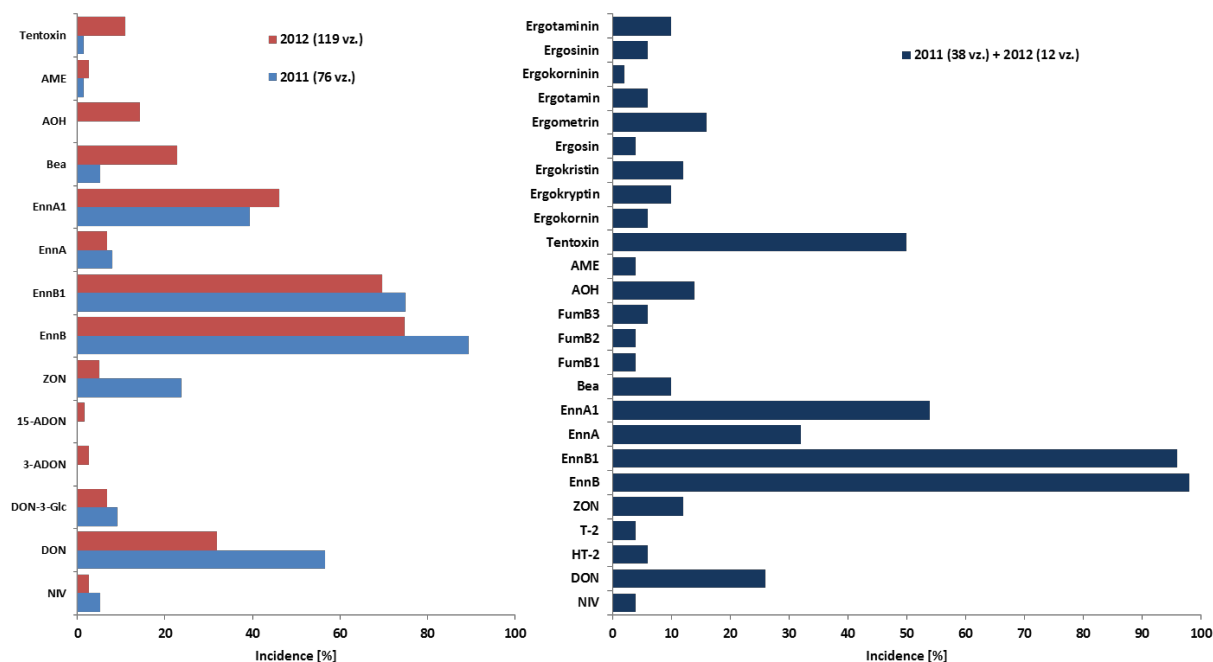
Extrakty obilnin určené k proměření prostřednictvím rychlotestu byly připraveny dle návodu, který je součástí každého rychlotestu.

Identifikace a kvantifikace

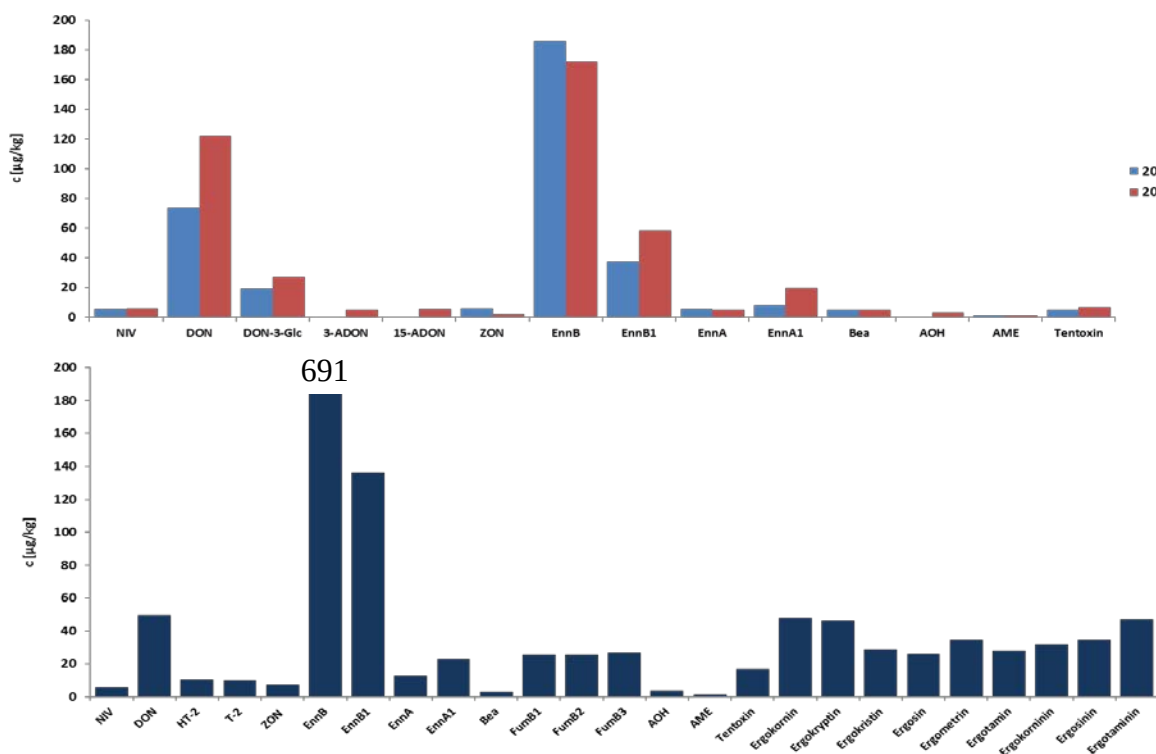
Identifikace a kvantifikace byla provedena pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie s využitím kapalinového chromatografu Acquity U-HPLC (Waters), k detekci analytů byl použit tandemový hmotnostní spektrometr QTRAP 5500 (Applied Biosystems). Díky širokému rozmezí fyzikálně-chemických vlastností 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.³

Výsledky a diskuse

Vzorky obilnin byly vyšetřeny na přítomnost 57 mykotoxinů/ergotových (námelových) alkaloidů. graficky znázorňují procentuální zastoupení jednotlivých mykotoxinů v pšenici a žitu z uvedených odběrových míst. Kvalita je z pohledu výskytu legislativně sledovaných mykotoxinů uspokojivá a pouze výjimečně byl překročen legislativní limit pro deoxynivalenol (1250 µg/kg) a zearalenon (100 µg/kg) v nezpracovaných cereáliích. Byly zaznamenány vyšší hladiny fusariových mykotoxinů enniatinů (zejména enniatinu B a B1), které byly detekovány ve většině vzorků (viz. Obr. 1 a Obr. 2). Tyto látky nejsou zatím legislativně regulovány.



Obr. 1 Incidence mykotoxinů a ergotových alkaloidů ve vzorcích pšenice (vlevo) a žita (vpravo)

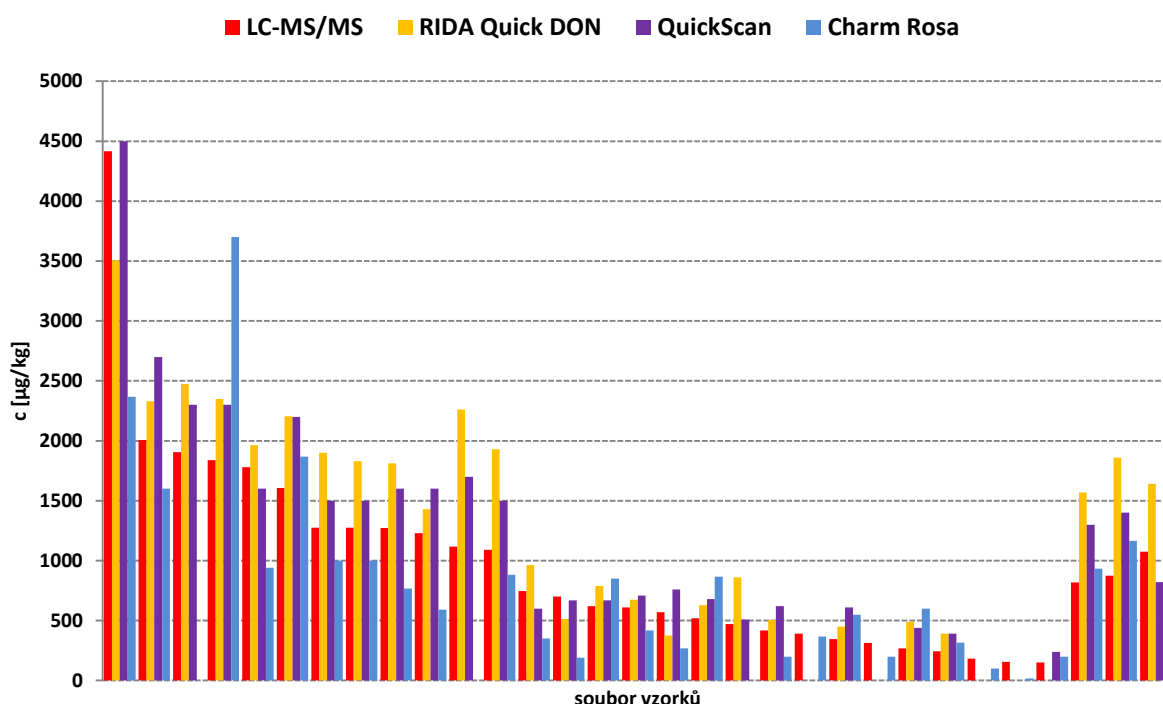


Obr. 2 Průměrné obsahy mykotoxinů a ergotových alkaloidů ve vzorcích pšenice (nahore) a žita (dole)

V rámci uvedené studie byly testovány tři komerčně dostupné screeningové rychlotesty pro stanovení DON v cereáliích. Uvedené hodnoty koncentrací získané pomocí rychlotestů byly stanoveny jako průměr tří po sobě odečtených hodnot z příslušných digitálních čteček a srovnány vždy s hodnotou DON stanovené pomocí LC-MS/MS (Obr.3). Průměrná procentuální bilance hodnot získaných pomocí rychlotestů vztahených na data získaná LC-MS/MS metodou (bráno jako referenční hodnota 100%) byly nadhodnoceny i) o 32% pro R- Biopharm AG (Německo) - testy RIDA[®] QUICK DON a ii) o 26% pro EnviroLogix (USA) - test QuickScan, vzhledem

k LC-MS/MS datům byla výsledná data podhodnocena o 16% pro *iii*) Charm Sciences, Inc. (USA) - test Charm ROSA. V případech, kdy hodnoty koncentrací DON určené pomocí rychlotestů přesahují hodnoty získané metodou LC-MS/MS, je možné toto nadhodnocení vysvětlit výskytem a možnou křížovou reakcí testů s konjugáty DON, tedy D3G a 3-ADON. Podhodnocení u třetího rychlotestu bylo zřejmě způsobeno nanesením nepřefiltrovaného extraktu na strip, kdy pevné částice obsažené v extraktu mohly částečně zamezit kontaktu vodného extraktu s reakční zónou rychlotestu, čemuž by mělo být zamezeno zařazením kroku filtrace/centrifugace před nanesením extraktu na strip.

Závěrem lze shrnout, že všechny rychlotesty jsou vhodnou variantou při screeningovém monitoringu mykotoxinu DON v cereáliích a jsou dále vhodné k rutinnímu využití v praxi, jako např. ve mlýnech a provozech, kde je třeba kontinuálně testovat kvalitu zpracovávaných cereálních surovin a kde není možné využívat náročnější instrumentální techniky.



Obr. 3 Výsledné koncentrace DON ve vzorcích získaných pomocí metod LC-MS/MS, RIDA®QUICK DON, QuickScan a Charm ROSA

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

Literatura

1. Krska, R.; Molinelli, A. Rapid test strips for analysis of mycotoxins in food and feed. *Anal Bioanal Chem* **2009**, 393, 67–71.
2. Stejskal, V.; Hajšlová, J.; Kocourek, V. *Bioanalytické metody pro hodnocení bezpečnosti zemědělských surovin a produktů*; VŠCHT Praha: VÚRV, 2008.
3. Lacina, O.; et al. Critical assessment of extraction methods for the simultaneous determination of pesticide residues and mycotoxins in fruits, cereals, spices and oil seeds employing ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2012**, 1262 (2), 8–18.

R 26**MONITORING FYTOESTROGENŮ V TRAVNÍCH POROSTECH V ZÁVISLOSTI NA OŠETŘENÍ A SKLADOVÁNÍ**

Krtková V., Schulzová V., Novotná H., Hajšlová J.

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

Klíčová slova: fytoestrogeny, *T. pretense*, *T. medium*, UHPLC-MS/MS**Úvod**

Fytoestrogeny jsou biologicky aktivní látky rostlinného původu, které vykazují podobné účinky jako pohlavní hormony estrogenu. V posledních letech vzrostl zájem o tyto látky pro jejich možné prospěšné, ale i případné negativní účinky na lidský organismus. Za hlavní a významné zdroje fytoestrogenů jsou pokládány luštěniny (především sojové boby) a pícniny (jetel luční, vojtěška setá), které bývají častou součástí krmiva. Nejvíce zastoupenými fytoestrogeny v pícninách jsou biochanin A a formononetin a v luštinách daidzein, genistein a glycitein. V organismu savců jsou fytoestrogeny metabolizovány na produkty, které vykazují obecně vyšší estrogenní aktivitu než původní formy (např. přeměna vázaných forem glukosidů na aglykony a příslušné metabolity).

V rámci čtyřleté studie jsou sledovány hladiny fytoestrogenů v trvalých travních porostech (TTP) z různých lokalit. Jedná se o šlechtěné odrůdy jetele, jetel luční (*Trifolium pratense*) a jetel prostřední (*Trifolium medium*), dále o senáže a dlouhodobě skladované senáže z lokality Závěšice a Lukov, připravené ze sečí TTP.

Cíl práce

Cílem realizované studie bylo sledování profilu fytoestrogenů (FE) nové hybridní populace *T. pratense* x *T. medium* - JEH, která vznikla mezidruhovou hybridizací rodičovské rostliny *T. pretense* / Amos a *T. medium*. *T. pretense* je považován za vysoce kvalitní pícninu, ale má nízkou vytrvalost, kterou lze zvýšit mezidruhovou hybridizací, pomocí níž rostliny získají nové znaky (rezistence k chorobám, biotickým faktorům apod.). Dalším cílem bylo posoudit obsah FE u kvalitní a nekvalitní senáže z lokality Závěšice a Lukov, seče TTP z let 2011 a 2012. Nekvalitní senáž byla připravena tak, že ochranná folie balíku byla uměle na několika místech narušena vpichy vidlemi (simulace poškození větvemi) a proříznuta nožem (simulace většího poškození). Přibližně 1 krát týdně byl takto porušený balík pokropen 10 l vody (simulace zatékání dešťové vody do porušeného balíku).

Rostlinný materiál se také používá k výrobě nutraceutik, proto byly v tržní síti zakoupeny doplňky stravy obsahující FE a analyzován jejich obsah. Tyto výrobky byly převážně určeny pro ženy v období menopauzy,

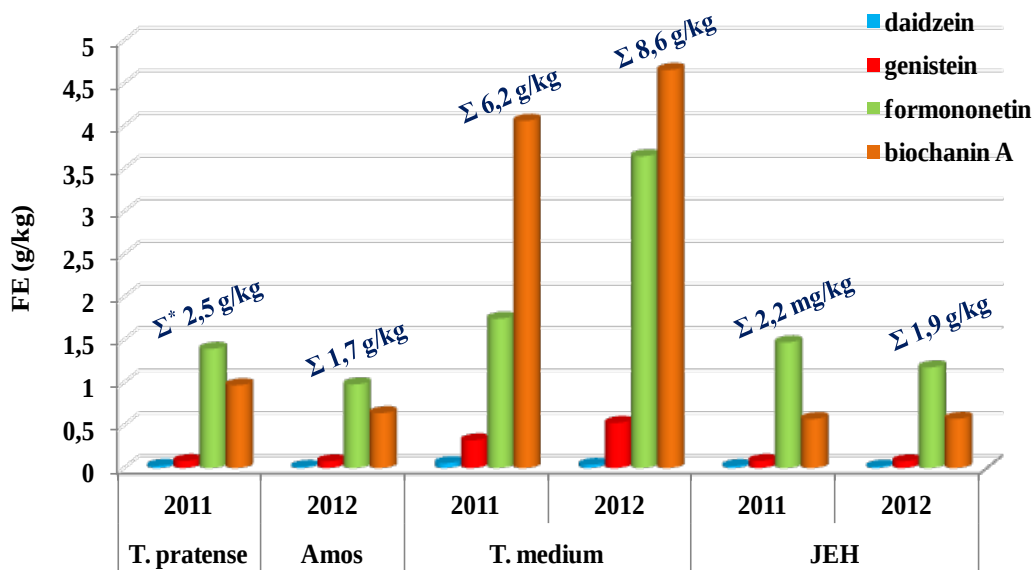
Analytická metoda

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 kyselé hydrolýzy (stanovení celkových fytoestrogenů). Ve výsledcích je dále uváděn pouze obsah celkových fytoestrogenů. Ke stanovení fytoestrogenů byla využita optimalizovaná a validovaná metoda ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UPLC - MS/MS).

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

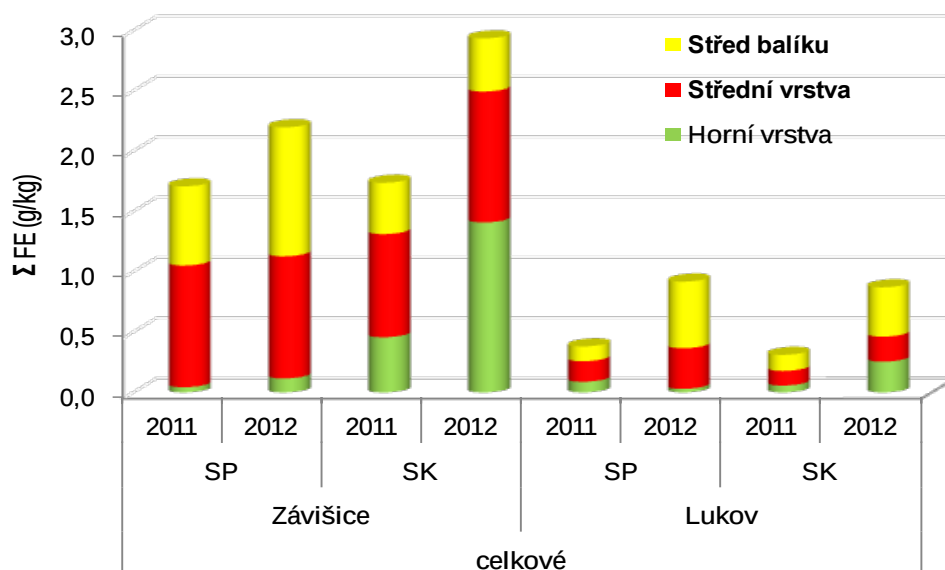
Šlechtitelský materiál založený na hydridech *T. pratense* x *T. medium* je vhodným zdrojem genetické variability pro *T. pratense*. V roce 2012 byla ke šlechtění použita, jako rodičovská rostlina, registrovaná odrůda *T. pratense* s názvem *Amos*. Mezi jednotlivými odrůdami jetele byl zjištěn rozdíl v profilu a obsahu fytoestrogenů (FE). Při porovnání zastoupení FE u hybridních rostlin JEH uvedených dvou rodičů byl zjištěn nižší obsah FE než *T. medium*. U *T. medium* byl pozorován vyšší obsah biochaninu A, než tomu bylo u hybridních rostlin JEH, kde byl naopak vyšší obsah formononetinu. Zastoupení FE v jednotlivých odrůdách jetele je dokumentováno na **Obrázku 1**.



Σ* suma všech přítomných FE v daném vzorku

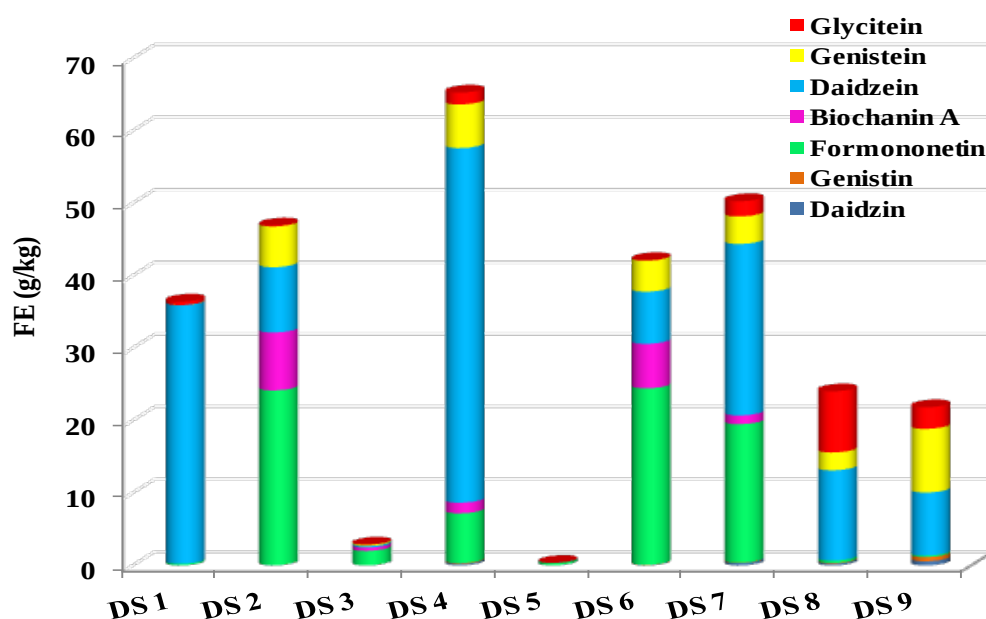
Obrázek 1: Obsah FE u jednotlivých odrůd jetele.

Při porovnání obsahu FE u kvalitní (SK) a nekvalitní (SP) senáže, kdy byla u každé senáže analyzována vždy horní vrstva, střední vrstva a střed balíku, byl v lokalitě Závišice mírně vyšší obsah FE ve vzorcích SK v roce 2012. Ve vzorcích SK a SP z lokality Lukov z obou sečí (2011 a 2012), nebyl pozorován významný rozdíl v obsahu FE. Vyšší obsah FE ve vzorcích SK a SP byl zaznamenán v roce 2012 u obou sledovaných lokalit. Porovnáme-li obsah FE v jednotlivých vrstvách balíků je patrné, že střední vrstva balíku je na obsah FE nejbohatší, platí pro SK i SP. Pouze v jednom případě byl obsah FE vyšší v horní vrstvě balíku, jednalo se o vzorky SK z lokality Závišice, seč 2012. Porovnání obsahu FE ve vzorcích senáže v jednotlivých analyzovaných vrstvách balíků z obou sledovaných lokalit je na **Obrázku 2**.



Obrázek 2: Porovnání obsahu FE u kvalitní (SK) a nekvalitní (SP) senáže v lokalitách Závišice a Lukov.

Jelikož se rostlinný materiál (extrakt) používá také pro výrobu nutraceutik, byly zakoupeny a analyzovány doplňky stravy obsahující FE, jejichž zdrojem byl různý rostlinný materiál (sója, jetel luční, len setý, atd.). Dle zastoupení FE lze usuzovat na povahu výchozího materiálu, ze kterého byly FE izolovány. Z výsledků vyplývá (**Obrázek 3**), že doplňky stravy DS 1, DS 8 a DS 9 byly vyrobeny pouze ze sojového materiálu bez přídavku jetele (dominantní obsah daidzeinu, nedetekován biochanin A a zanedbatelné množství formononetinu). V DS 2 a DS 6 koresponduje poměr formononetinu a biochaninu A k ostatním FE se zastoupením těchto látek v jeteli lučním (*T. pratense*). Případně může jít o kombinaci jetele a malého množství jiné rostlinné složky. Hladiny FE u nutraceutik DS 4 a DS 7 poukazují na kombinaci sóji a jetele.



Obrázek 3: Zastoupení FE v doplňcích stravy.

Závěr

Mezi jednotlivými odrūdami jetele byl zjištěn rozdíl v obsahu a profilu fytoestrogenů. Rostliny hybridní populace JEH obsahovaly nižší obsah FE než *T. medium*. U hybridní populace JEH byl zaznamenán pokles biochaninu A a formononetinu v porovnání s rodičovskou rostlinou *T. medium*.

Ve vzorcích kvalitní a nekvalitní senáže byl zjištěn významně vyšší obsah FE ve vzorcích z lokality Závašice (seč 2011 i 2012), který mohl být pravděpodobně způsoben rozdílným zastoupením jednotlivých travin v dané lokalitě, složením půdy a roli mohly hrát i různé stresové faktory.

V zakoupených doplňcích stravy, převážně určených pro ženy v období menopauzy, se koncentrace celkových fytoestrogenů pohybovala v rozmezí 0,3 – 65 g/kg. Obsah v jedné tabletě tak představoval 0,2 – 37,4 mg. Dle zastoupení jednotlivých fytoestrogenů byl identifikován původ rostlinného materiálu (na bázi jetele či sóji, případně jejich kombinace), který se shodoval s údaji od výrobce.

Poděkování

Tato studie vznikla za podpory projektů (i) MZe QI111C016, (ii) MŠMT MSM 6046137305 a (iii) účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 21/2013)

Literatura

1. Řepková J., Simandlová J., Jakešová H., Nedělník J., Soldánová M., Hajšlová J., Schulzová V.: Vztah rodičovských genomů u mezidruhových hybridů *Trifolium pratense* x *Trifolium medium*. *Úroda, Vědecká příloha*, **2012**, 12, 27-30, ISSN 0139-6013.
2. Velíšek J., Hajšlová J.: *Chemie potravin 3. OSSIS Tábor*, **2009**
3. Gilbert J., Senyuva Z.: *Bioactive compounds in foods. Blackwell Publishing*, **2008**.
4. Moravcová J.: Vliv fytoestrogenů na symptomy menopauzy a rakovinu prsu. *Interní medicína pro praxi*, **2008**, 11, 10, 517-519.
5. Kuhnle G. G. C., Aquila C. D., Aspinall S. M., Runswick S. A., Mulligan A. A., Bingham S. A.: Phytoestrogen content of foods of animal origin: Dairy products, eggs, meat, fish, and seafood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2008**, 56, 10099-10104.
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
7. 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.
8. Mazur W.: Phytoestrogen content in foods. *Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism*, **1998**, 12, 4, 729-741.

R 27

OPTIMALIZACE ZPŮSOBŮ KLÍČENÍ SOJI Z HLEDISKA MIKROBIÁLNÍ KVALITY, PROCENTA KLÍČIVOSTI A OBSAHU GALAKTOSIDŮ

Landfeld A.¹, Halama R.,¹ Novotná P.¹, Kýhos K.¹, Strohalm J.¹, Winterová R.¹, Eichlerová E.¹, Erban V.¹, Kadlec P.³, Dostálová J.², Houška M.¹

¹ Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.

² Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT v Praze

³ Ústav sacharidů a cereálií, VŠCHT v Praze

Souhrn

Cílem této práce byla optimalizace aparatur na submerzní klíčení soji. Šlo o vsádkové klíčení, vsádkové klíčení s kontinuálním promýváním, systém klíčení s falešným dnem s kontinuálním promýváním a systém klíčení s falešným dnem promývaný kontinuálně promývací kapalinou s tím, že po určité době byla kapalina zcela vypuštěna a poté znovu plněna. Promývací kapalinou byl vodný roztok antimikrobního prostředku Persteril o různých koncentracích. Kapalina byla kontinuálně probublávána filtrovaným vzduchem. K popsanému způsobu klíčení bylo třeba použít čerstvou sóju a zajistit relativně intenzivní probublávání obsahu nádoby vzduchem. Při nedodržení těchto požadavků klíčení nenastává. Klíčení soji rovněž napomáhá předmáčení sójových bobů před vlastním procesem (zkracuje se doba průniku vody do bobů). Jako antimikrobní prostředek se osvědčila voda s přídavkem nízké koncentrace Persterilu v průtočném systému. Vysoká koncentrace Persterilu nebo jeho dlouhodobé působení inaktivovaly proces klíčení. Optimální teplota vodného roztoku byla 25 °C. Stimulátory klíčení se v našich pokusech příliš neosvědčily. Současný efekt antimikrobního prostředku na mikroorganismy i na klíčení vyvolává nutnost hledat optimální podmínky pro dosažení dobrého naklíčení při ještě přijatelné koncentraci mikrobů po klíčení. V provedených experimentech byly nalezeny optimální podmínky klíčení. V prvním případě se celkový počet mikroorganismů pohyboval po 24 i 48 hodinách klíčení v řádu CPM 10^2 KTJ/g. V druhém případě se celkový počet mikroorganismů po 48 hodinách klíčení pohyboval řádově 10^3 KTJ/g CPM a kvasinek a 10^2 KTJ/g plísní, což jsou velmi přijatelné výsledky. V tomto případě byla dosažena klíčivost zrn 90 %.

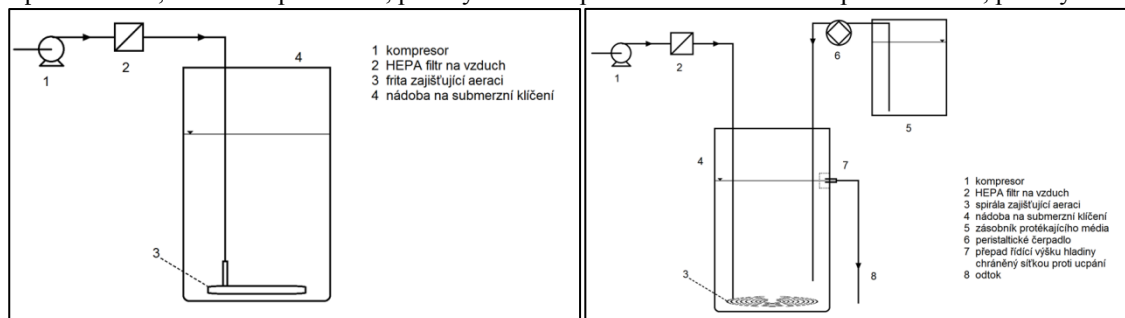
Materiál a metody

Bylo provedeno 46 pokusů. Výsledky všech těchto pokusů, fotografie naklíčených sójových bobů a veškeré další podrobné údaje jsou uvedeny ve výzkumné zprávě [1].

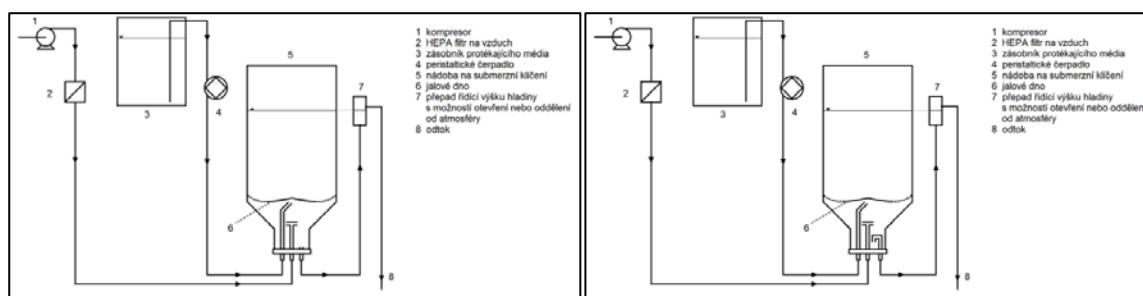
Byly vyvinuty 4 druhy aparatur, viz obrázky aparatur, na klíčení (vsádkové, kontinuální uspořádání). Byly zkoušeny různé varianty klíčení bez provzdušňování a s provzdušňováním, při teplotě média 25 °C. Jako dezinfekční prostředek byl použit Persteril v různé koncentraci ve vodě a sledován vliv jeho koncentrace na klíčivost, vzhled semen a obsah mikroorganismů.

U vybraných vzorků byl sledován obsah galaktosidů.

Aparatura č. 1, vsádkové provedení, pokusy č.1–22 Aparatura č.2 kontinuální průtok média, pokusy č.23–32



Aparatura č.3 kontinuální průtok média, jalové dno, Aparatura č. 4 střídavé plnění a odtok média, jalové dno, pokusy č.33–42, pokusy č.43–46



Výsledky a jejich diskuse

Pokusy na aparatuře č.1

Zkoušeny různé koncentrace Persterilu. Vyšší koncentrace než 0,01 % způsobují neklíčení semen a hnědnutí. Ve vsádkovém systému časem Persteril vprchá. Výsledky pokusu č. 9 s promýváním roztokem Persterilu 0,01 % ukázaly, že nevedou k potřebnému klíčení soji.

Pokusy na aparatuře č. 2,

Výsledky pokusu č. 24 (kontinuální proplach vodou) ukázaly, že po třech dnech klíčení byla semena a klíčky nahnědlé. Byl zjištěn procentuální podíl klíčených a neklíčených semen 49,7 % (po 3 dnech klíčení), délka klíčků 1 – 3 cm. Vzorek 110 E submerzně klíčená sója 72 hodin, bez Persterilu, s oplachem vodou klíčila nedostatečně.

Při pokusu č. 26 (kontinuální proplach roztokem Persterilu 0,001%) byl zjištěn procentuální podíl klíčených a neklíčených semen 47,3 % (po 2 dnech klíčení), délka klíčků 1 – 2 cm. Vzorek 116 C submersně klíčená sója 48 hodin za kontinuálního průtoku roztoku Persterilu (0,001%), s oplachem vodou prakticky neklíčila.

Vliv klíčení na obsah galaktosidů

V Tab. 1 jsou uvedeny výsledky stanovení obsahu galaktosidů v různě klíčených vzorcích soji. Je uveden průměrný obsah (ze dvou stanovení) sacharidů a galaktosidů (galaktosidy v sóje = součet obsahu rafinosy a stachyosy). U vzorku 109 (klíčenému 3 dny v 0,01% Persterilu) došlo k 16 % snížení obsahu galaktosidů oproti kontrolnímu suchému vzorku 117. Přitom délka klíčků byla 1 cm. U vzorku 110 (klíčeném 3 dny ve vodě) se snížil obsah galaktosidů o 33,4 %, délka klíčků byla 1-3 cm. U vzorku 116 (klíčení 2 dny v 0,001 % Persterilu) došlo ke snížení galaktosidů o 47,3 %, délka klíčků 1-2 cm. K největšímu úbytku galaktosidů došlo tedy u sóji 3 dny klíčené v čisté vodě, tyto vzorky měly i největší klíčky.

Tab. 1 Výsledky stanovení obsahu sacharidů a galaktosidů v různě klíčených vzorcích soji

průměry (g/100 g sušiny)						
Č. vzorku	fruktóza	glukosa	sacharóza	rafinóza	stachyosa	Σ galaktosidů
117	0,49	0,07	6,87	1,01	2,47	3,48
109	0,53	0,10	6,14	0,83	2,09	2,92
110	0,56	0,19	5,80	0,65	1,67	2,32
116	0,55	0,20	5,87	0,62	1,80	2,41

Vliv stimulatorů klíčení

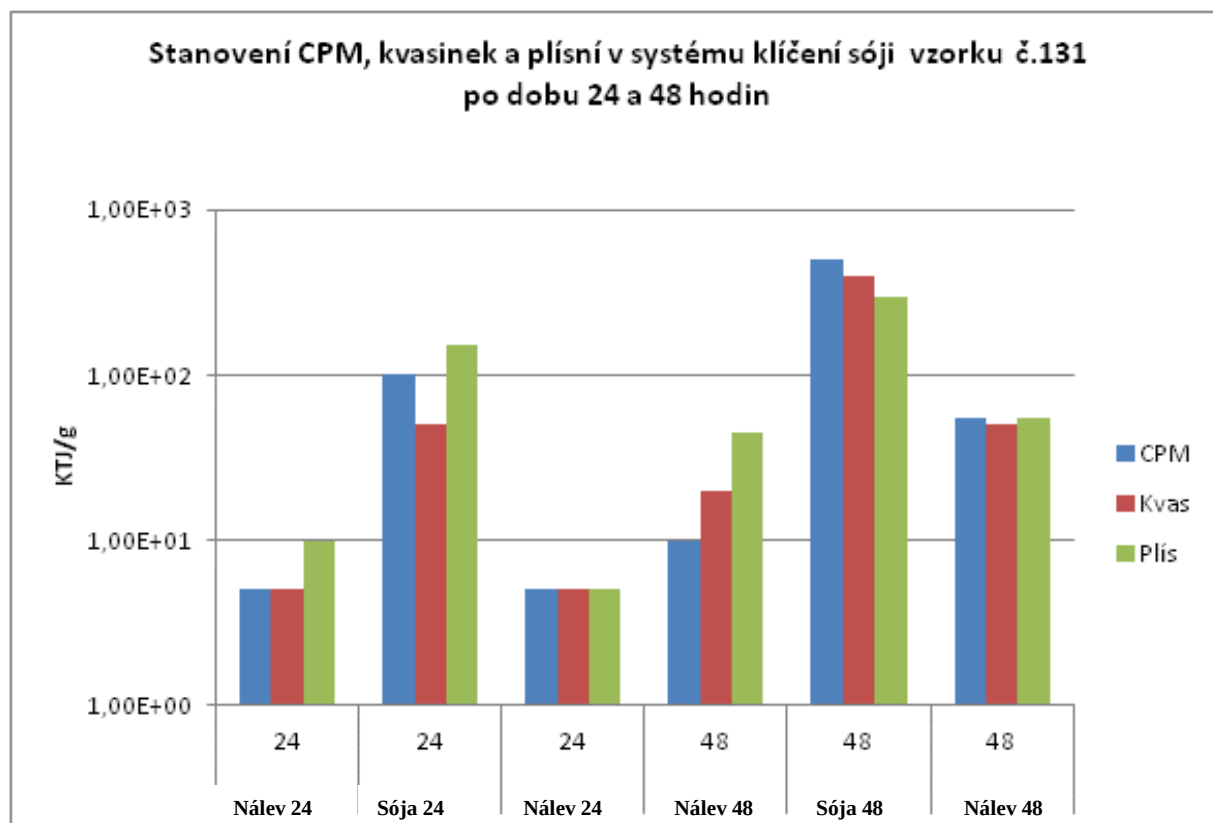
Klíčení se provádělo po proplachu vodou a se stimulatory klíčení. Zkouška se prováděla za přítomnosti různých stimulatorů. Z níže uvedené Tab. 2 je patrné, že stimulatory klíčení nepodporují významně klíčivost sóji, neboť kontrolní vzorek bez stimulatoru vykazuje výrazně vyšší stupeň klíčení.

Tab. 2 Výsledky klíčení různých vzorků soji za podpory stimulátorů klíčení

Vzorek s označením stimulatoru klíčení	Procento klíčení
Vz. 111 (kontrola)	57,5% naklíčených semen (po 2 dnech klíčení), délka klíčků 1-1,5 cm
Vz. 112 (GA)	45,8% naklíčených semen (po 2 dnech klíčení), délka klíčků 1 cm
Vz. 113 (GY)	37,9% naklíčených semen (po 2 dnech klíčení), délka klíčků 0,5-1 cm
Vz. 114 (KM)	0 % naklíčených semen (po 2 dnech klíčení)
Vz. 115 (F7)	37,5% naklíčených semen (po 2 dnech klíčení), délka klíčků 1-2 cm

Pokusy na aparatuře č. 3

U této aparatury byly zajímavé především výsledky pokusu č. 39. Byl získán vzorek 131 E submerzně klíčená sója 48 hodin, s oplachem vodou. Kontinuálně byl přidáván z barelu roztok kyseliny peroxyoctové v koncentraci 0,015 %. Byl sledován pokles obsahu kyseliny peroxyoctové během klíčení. Nálev před měřením ředěn (koncentrace měřena testovacími proužky na stanovení kyseliny peroxyoctové). Byl získán vůbec nejlepší mikrobiologický rozbor, viz Obr. 5. Největší koncentrace celkového počtu mikroorganismů nepřesáhly hodnoty 10^3 KTJ/g. Avšak semena vůbec neklíčila.

Obr. 5 Výsledky mikrobiologického hodnocení vzorku sóji 131 a nálevu v průběhu klíčení**Pokusy na aparatuře č. 4**

Pokusy na této aparatuře byly provedeny s novou dávkou sóji, která vykazovala výbornou klíčivost. Za 24 hodin bylo naklíčeno klasickým způsobem na vlhké buničině 57 % semen a za 48 hodin bylo naklíčeno 100 % semen.

Pokus č. 44 byl proveden s kontinuálním proplachem semen vodou. Vzorek 140 B vykázal klíčivost 87,9 % naklíčených semen (po 3 dnech klíčení) a klíčky o délce 0,5 – 7 cm. Nenaklíčená semena byla některá zahnědlá, nálev čirý.

Pokus č. 45 byl proveden s kontinuálním proplachem roztoku Persterilu. Byl zaveden přítok 0,0025 % roztoku Persterilu a byla zahájena aerace. Odtok z lahve byl řešen sifonem, kterým po

dosažení maximální hladiny odtekla samospádem všechna voda z nádoby. Cyklus naplnění a vyprázdnění trval přibližně hodinu. Po 48 hodinách byl pokus ukončen. Vzorek 141B vykázal 73,8 % naklíčených semen (po 2 dnech klíčení), klíčky o délce 0,5 – 2,5 cm. Toto je velmi úspěšný výsledek klíčení. Mikrobiální hodnocení takto naklíčeného vzorku semen sóji a nálevu je uvedeno v Tab. 3. Je patrné, že celkové počty mikroorganismů nepřesahují řád 10^6 KTJ/g

Tab. 3 Výsledky mikrobiálního hodnocení vzorku klíčené soji 141B po 48 hodinách klíčení

Dat.přij.	Dat.rozb.	Označení vzorku	Název vzorku	Doba klíčení (hodiny)	Koncentrace Persterilu(%v systému ve 24.hodině (mg/l)	Koncentrace Persterilu(%v systému ve 45.hodině (mg/l)	Skupiny mikroorganismů(MO)	Počet MO(KTJ/g)	log MO
21.11.12	21.11.12	141A	nálev	48	5	0	CPM	7,7E+04	4,89
21.11.12	21.11.12	141A	nálev	48	5	0	Kvas	4,4E+02	2,64
21.11.12	21.11.12	141A	nálev	48	5	0	Plís	2,8E+02	2,44
21.11.12	21.11.12	141B	soja klíčená	48	5	0	CPM	6,0E+06	6,77
21.11.12	21.11.12	141B	soja klíčená	48	5	0	Kvas	1,4E+04	4,15
21.11.12	21.11.12	141B	soja klíčená	48	5	0	Plís	2,0E+03	3,31

Závěry

Byly testovány čtyři druhy aparatur pro provedení submerzního klíčení, viz schémata č. 1,2,3 a 4. Z těchto testovaných variant se osvědčily dobře aparatury č. 3 a 4.

K submerznímu klíčení je třeba použít čerstvou sóju ze sklizně téhož roku uchovávanou v chladu a zajistit relativně intenzivní probublávání obsahu nádoby vzduchem. Bez vzduchu klíčení nenastává.

Klíčení sóji napomáhá předmáčení sójových bobů před vlastním procesem, neboť zkracuje dobu potřebnou k průniku vody do bobů.

Klíčení napomáhá snížení obsahu galaktosidů v sójových bobech a jejich přeměně na jednodušší sacharidy.

Jako antimikrobní prostředek se osvědčila voda s přidavkem nízké koncentrace Persterilu v průtočném systému. Klíčení vyhovuje použitá teplota protékající vody 25 °C. Vysoká koncentrace nebo dlouhodobé působení Persterilu inaktivuje proces klíčení.

Stimulátory klíčení se v našich pokusech příliš neosvědčily. Současný efekt antimikrobního prostředku na mikroorganismy i na klíčení vyvolává nutnost hledat optimální podmínky pro dosažení dobrého naklíčení při ještě přijatelné koncentraci mikrobů po klíčení.

Jako optimální byly stanoveny pokusy popsané v protokolu č. 44 a č. 45. V prvním případě se celkový počet mikroorganismů pohyboval po 24 i 48 hodinách klíčení v řádu CPM 10^7 KTJ/g, plísní a kvasinek řádově 10^2 KTJ/g. V druhém případě se celkový počet mikroorganismů po 24 i 48 hodinách klíčení pohyboval řádově 10^6 KTJ/g, kvasinek 10^4 KTJ/g a plísní 10^3 KTJ/g, což jsou velmi přijatelné výsledky. Přitom procento klíčení bylo 88 % a 74 % a průměrná délka klíčků 2 cm.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem MZe QI111B053 „Nové postupy pro využití zemědělských surovin a produkci hlavních druhů potravin zvyšující jejich kvalitu, bezpečnost, konkurenceschopnost a výživový benefit spotřebiteli“.

Použitá literatura

[1] Landfeld A., Halama R., Novotná P., Kýhos K., Strohalm J., Houška M., Winterová R., Eichlerová E., Erban V., Kadlec P., Dostálová J.(2012), Úpravy luštěnin vedoucí k odbourání flatulentních alfa-galaktosidů a ke zvýšení obsahu biologicky aktivních látek příznivě působících na lidské zdraví, Výzkumná zpráva č. 1/360/2012

PRŮKAZ PŘÍDAVKU SYNTETICKÉ KYSELINY OCTOVÉ DO NÁLEVU KONZERVOVANÉ ZELENINY: STANOVENÍ IZOTOPOVÝCH POMĚRŮ S VYUŽITÍM ^2H -NMR A IRMS SPEKTROMETRIE

Grégrová A.¹, Čížková H.¹, Neradová E.¹, Mazáč J.², Voldřich M.¹

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

2) Celně technická laboratoř Praha, Budějovická 7, 140 96 Praha 4

Úvod

Autenticita potravin a metody detekce falšování potravin jsou předními a vysoce aktuálními tématy nejen pro odbornou, avšak i pro laickou veřejnost. V případě potravinářských komodit existují různé typy falšování, a to například změněné složení potraviny nebo odlišný obsah jedné či více složek, uvedení nesprávné odrůdy či druhu potraviny, chybně deklarovaný geografický původ potraviny, jiný způsob výroby nebo jiné než deklarované technologie aj. [1]

V posledních letech se objevilo podezření na falšování octů přidavkem syntetické kyseliny octové. Přední čeští producenti octa již několikrát varovali před podezřelým octem v distribuční síti. Indikátory byly zejména cena, nestandardní senzorické vlastnosti a také vyšší koncentrace kyseliny octové v octě, které nelze při kvašení dosáhnout. Lze očekávat, že se na našem trhu vyskytují i konzervářské výrobky, u kterých je záměrně (částečně nebo úplně) nahrazen kvasný ocet syntetickou kyselinou octovou zředěnou vodou, případně je (chybně) zamlčena přítomnost syntetické kyseliny octové ve složení na etiketě daného produktu.

Kvasným octem se rozumí okyselující potravina vyrobená výlučně biologickým procesem kysání lihu obohaceného živinami za pomoci octových bakterií. Alternativou je použití syntetické kyseliny octové jako přídatné látky (E260). [2] Syntetická kyselina octová však není primárně určena k potravinářským účelům. K výrobě octa není povolen syntetický líh.

Detekce falšování se zakládá na sledování markerů indikujících nedodržení technologického postupu, snížení obsahu přirozených složek suroviny nebo složek vznikajících při octovém kvašení. Falšované octy mohou obsahovat také složky vnesené syntetickým produktem, prekursorů z výroby. Možnosti použití chemometrických markerů jsou omezené; u kvasných octů je možné využít stanovení složek výchozích surovin, u lihových octů je však produkt obvykle velmi čistý.

Jako nejspolehlivějším nástrojem pro autentizaci octů se jeví izotopová analýza, tj. SNIF-NMR (^2H -NMR; přirozená frakcionace izotopů pomocí nukleární magnetické rezonance; stanovení izotopového poměru $^2\text{H}/^1\text{H} = \text{D}/\text{H}$) a IRMS (hmotnostní spektrometrie izotopových poměrů; stanovení izotopového poměru $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ metodou EA-IRMS a stanovení izotopového poměru $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ pomocí IRMS rovnovážnou metodou). Porovnáním naměřených izotopových parametrů s databázovými či literárními hodnotami pro známý botanický, geografický nebo jiný původ organických látek se usuzuje o původu těchto látek. [3-5]

Metoda SNIF-NMR se používá pro stanovení izotopového poměru D/H (methylová skupina) pro molekulu kyseliny octové. Metoda se zakládá na kvantitativní ^2H -NMR spektrometrii. Hodnoty se získají výpočtem z ploch příslušných NMR signálů kyseliny octové a vnitřního standardu.

Metoda EA-IRMS se používá pro jakýkoliv pevný či kapalný spalitelný materiál obsahující uhlík v libovolném množství. Hodnota izotopového poměru $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (izotopové zastoupení se vyjadřuje δ funkcí v jednotkách ‰, ve které je zastoupení izotopů ve vzorku vztaženo ke standardní hodnotě) kyseliny octové se stanovuje z oxidu uhličitého získaného spálením kyseliny octové v elementárním analyzátoru (EA).

Rovnovážná metoda IRMS se používá pro jakýkoliv kapalný materiál s převahou vody bez nutnosti jejich předběžné úpravy. Charakteristický izotopový poměr $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ je pomocným markerem potvrzujícím výrobní proces kvasného lihového octa (kvasný lihový ocet vyrobený z pitné vody běžné v daném regionu).

Poměry D/H pro autentický ocet se pohybují v rozmezí 90 ppm až 110 ppm v závislosti na botanickém původu, poměry pro syntetickou kyselinu octovou jsou v rozmezí 120 ppm až 140 ppm. [6] Hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ se pro ocet kvasného původu pohybují od -30 ‰ do -10 ‰,

pro syntetickou kyselinu octovou od -40 ‰ do -30 ‰. [6] Hodnoty poměru $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ se pro vodu v daném regionu (centrální Evropa) pohybují od -12 ‰ do -6 ‰. [7]

Postupy stanovení izotopů s využitím SNIF-NMR a IRMS pro kvasné octy byly již vypracovány, ovšem data pro směsi, kterými jsou například nálevy sterilované zeleniny s obsahem kvasného lihového octa, jsou naprosto nedostatečná. Analýza vzorku nálevu konzervované zeleniny se oproti analýze octa bude lišit zejména v případě přípravy vzorku.

Cílem práce bylo stanovení izotopových poměrů (D/H , $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ kyseliny octové a $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ vody) v nálevech z konzervované zeleniny (tradiční konzervářské výrobky: sterilované okurky) pomocí ^2H -NMR a IRMS spektrometrie za účelem prokázání falšování a ověření autenticity daných produktů, tj. odhalení přídavku syntetické kyseliny octové do kvasného lihového octa a do nálevů z konzervované zeleniny s jeho obsahem. Práce navazuje na výzkum autorského kolektivu zaměřený na ověřování postupů hodnocení kvality a autenticity kvasných lihových octů. [8]

Materiál a metody

Celkem bylo analyzováno 54 vzorků, z nich 17 vzorků kvasných lihových octů a 12 vzorků nálevů ze sterilovaných okurek s deklarovanou přítomností kvasného lihového octa zakoupených v české tržní síti; dále bylo analyzováno 7 vzorků syntetických octových kyselin zředěných vodou, 17 modelových vzorků (směs kvasného lihového octa a syntetické kyseliny octové v různých poměrech) a 1 modelový nálev připravený ze syntetické octové kyseliny (**Tab.1**).

Příprava vzorků

Kyselina octová byla ze vzorku nejprve extrahována diethyletherem (extrakce kapaliny kapalinou, LLE). Příslušný alikvot vzorku, 300 ml až 400 ml cca 8% kvasného lihového octa nebo 350 ml až 400 ml cca 1-2% octového nálevu z konzervované zeleniny s obsahem kvasného lihového octa, byl vysolen pomocí chloridu sodného. V případě octového nálevu byl nálev po vysolení ponechán zchladnout v lednici před vlitím do extraktoru (tím bylo eliminováno pění vzorku). Vzorek byl přelit do skleněného extraktoru pro LLE a k němu bylo přidáno minimálně 150 ml diethyletheru. Vzorek byl extrahován po dobu minimálně 8 hod. Vzorek vysoleného 8 % kvasného lihového octa byl extrahován pouze jedenkrát, avšak vzorek 1-2 % octového nálevu bylo nutné extrahovat opakovaně, a to minimálně 6krát.

Dále byla provedena rektifikace vedoucí k oddělení diethyl etheru od vyextrahované kyseliny octové na cadiotové destilační koloně s hlídanou teplotou.

Následně byla zbytková voda v rektifikantu stanovena metodou dle Karl Fishera a čistota rektifikantu byla ověřena pomocí HPLC. Rektifikant byl poté využit k přípravě vzorku pro stanovení $^2\text{H}/^1\text{H}$ pomocí ^2H -NMR a $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ prostřednictvím EA-IRMS.

Pro měření izotopového poměru $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ na IRMS rovnovážnou metodou byl použit surový vzorek bez nutnosti jakékoliv předchozí úpravy.

Stanovení izotopových poměrů

Izotopový poměr $^2\text{H}/^1\text{H}$ byl stanoven pomocí SNIF-NMR (Avance 400, Bruker BioSpin, Rheinstetten, Germany), poměr $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ byl analyzován pomocí EA-IRMS IRMS: Delta Plus XP + ConFlo III, Thermo Electron GmbH, Bremen, Germany; Elementar Analyzátor: EA/NA 1110, Fisons Instruments, Rodano, Italy) a poměr $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ byl proměřen na IRMS rovnovážnou metodou (IRMS: Delta Plus XP, Thermo Electron GmbH, Bremen, Germany; Gas Bench II: ThermoFisher Scientific, Bremen, Germany). Izotopové analýzy byly provedeny v rámci CTL Praha. [5]

Výsledky a diskuse

Stanovené poměry $^2\text{H}/^1\text{H}$ (**Tab. 1; Graf 1**) se pohybovaly od 90,3 ppm do 109,6 ppm pro kvasné lihové octy, od 114,2 ppm do 129,0 ppm pro syntetické kyseliny octové a od 89,4 ppm do 107,0 ppm pro nálevy sterilovaných okurek s výjimkou jednoho vzorku, jehož hodnota poměru $^2\text{H}/^1\text{H}$ byla 133,0 ppm, což svědčí o přídavku syntetické kyseliny octové do vzorku, respektive o úmyslně zamlčeném přídavku syntetické kyseliny octové, jenž nebyla uvedena na obalu produktu.

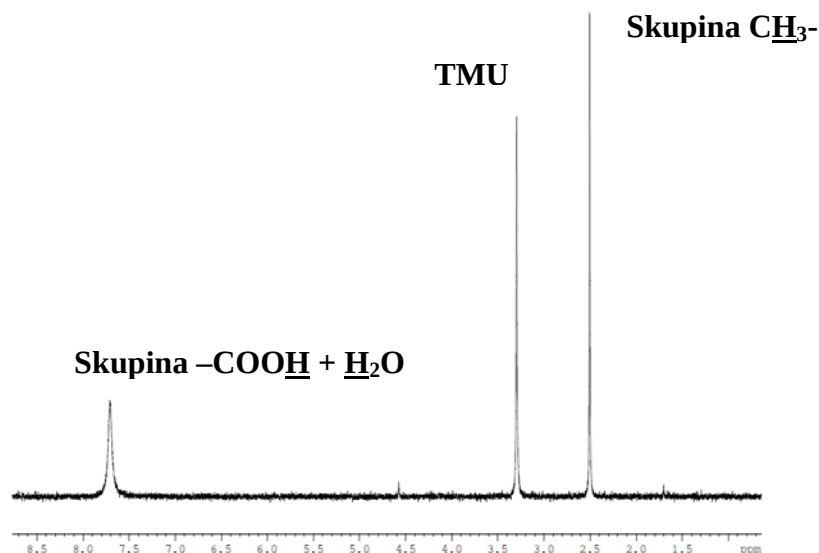
Stanovené poměry $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (**Tab. 1**) se pohybovaly od -28,8 ‰ do -12,3 ‰ pro kvasné lihové octy, od -45,2 ‰ do -32,5 ‰ pro syntetické kyseliny octové a od -28,7 ‰ do -15,6 ‰ pro nálevy sterilovaných okurek s výjimkou jednoho, již zmíněného vzorku, jehož hodnota poměru $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ byla -38,2 ‰, což opět indikuje přídavek syntetické kyseliny octové do vzorku.

Až na dvě výjimky (vzorky nepocházely z oblasti centrální Evropy) se hodnoty poměrů $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ všech analyzovaných vzorků pohybovaly v rozmezí pro vodu v regionu centrální Evropy.

Tab. 1 Stanovené izotopové poměry analyzovaných vzorků

Označení vzorků	$^2\text{H}/^1\text{H}$ [ppm]	$\delta^{13}\text{C}$ [‰]	Počet analyzovaných vzorků
Autentické kvasné lihové octy	od 90,3 do 104,5	od -28,8 do -16,9	4
Prokázané jako autentické kvasné lihové octy	od 91,8 do 109,6	od -28,4 do -12,3	13
Sterilované okurky nakládáné v nálevu s obsahem kvasného lihového octa	od 89,4 do 133,0	od -38,2 do -15,6	12
Syntetické octové kyseliny	od 114,2 do 129,0	od -45,2 do -32,5	7
* Modelové vzorky (1:9)	od 119,5 do 119,7	od -41,1 do -32,2	2
* Modelové vzorky (5:5)	od 106,9 do 112,6	od -36,2 do -26,1	3
* Modelové vzorky (6:4)	110,3	-25,3	1
* Modelové vzorky (7:3)	109,1	-23,9	1
* Modelové vzorky (8:2)	od 97,6 do 111,9	od -29,6 do -16,5	7
* Modelové vzorky (9:1)	od 93,7 do 104,4	od -30,5 do -20,9	3
# Modelový nálev	122,0	-34,0	1

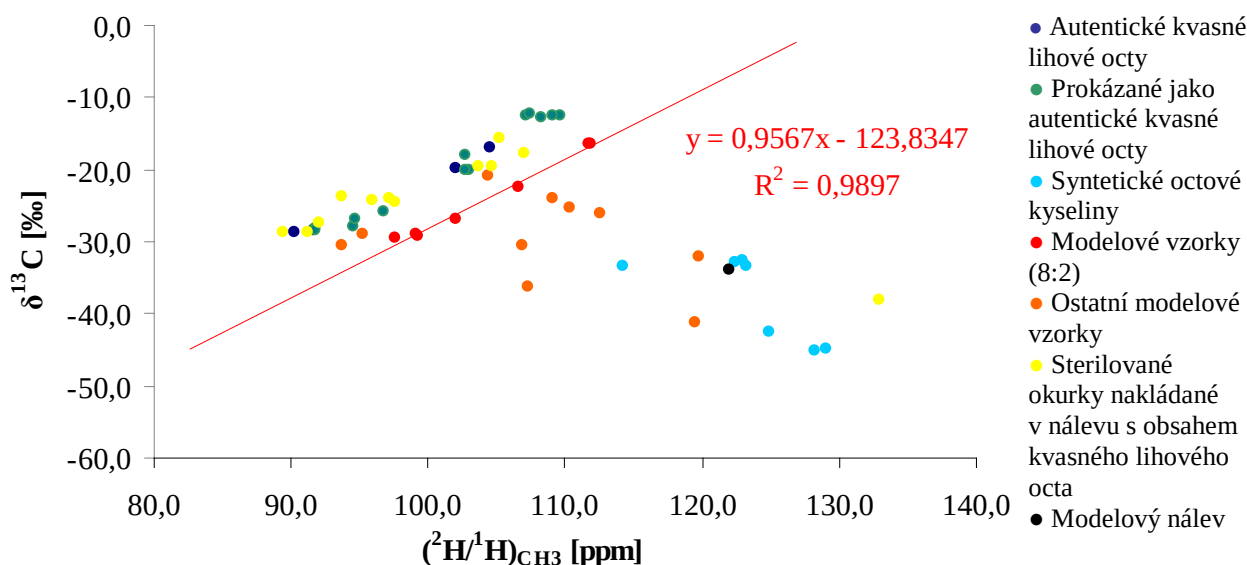
* modelový vzorek = směs kvasného lihového octa a syntetické kyseliny octové v poměrech uvedených v závorkách;
modelový nálev = 1% nálev připravený ze syntetické kyseliny octové.



Graf 1 Ukázkové ^2H -NMR spektrum kyseliny octové (TMU = tetramethyl močovina, vnitřní standard)

Graf 2 znázorňuje grafické vyjádření naměřených výsledků poměrů přirozených izotopů. Červená přímka indikuje kritický limit detekce 20% přídavku syntetické kyseliny octové do vzorku. Vzorky nad přímkou jsou nefalšované kvasné octy, octové nálevy či nálevy z konzervované zeleniny s obsahem kvasného lihového octa. Vzorky nacházející se pod touto hranicí jsou buď

falšování větším přídavkem syntetické kyseliny octové, nebo se jedná o vzorky syntetické kyseliny octové ředěné vodou.



Graf 2 Interpretace SNIF-NMR a EA-IRMS výsledků

Závěr

Izotopové metody založené na stanovení poměrů stabilních izotopů vodíku ($^2\text{H}/^1\text{H}$) a uhlíku ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$), tj. SNIF-NMR a IRMS, jsou využívány k charakterizování/určení botanického původu kyseliny octové a k detekci falšování octa syntetickou kyselinou octovou. Pro spolehlivé určení původu vzorku je nutné současné stanovení obou izotopových poměrů.

Izotopové analýzy jsou užitečnými a nezbytnými nástroji umožňujícím detekci více než 20 % přídavku syntetické kyseliny octové do kvasných lihových octů. Naměřená data poměrů $^2\text{H}/^1\text{H}$ a $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ rozšiřují databázi izotopových hodnot o kvasné lihové octy a zejména pak o nálevy sterilovaných okurek s obsahem kvasného lihového octa.

Poděkování

Výzkum byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum MŠMT č. 20/2013 a z podpory projektu MZe č. QI91B283. Autoři by rádi vyjádřili poděkování panu Vojtěchovi Kružíkovi z VŠCHT Praha a také kolegům z CTL Praha (Pavel Havelec, Petra Majerová a Jitka Velíšková) za jejich pomoc a spolupráci na tomto projektu.

Použitá literatura

1. Havelec P., Mazáč J., Schoula R., 2011: Celně technická laboratoř a její úloha v oblasti kontroly potravin. Metody a kritéria pro ověřování autenticity potravin a potravinářských surovin. KEY Publishing, Ostrava. 22–28. ISBN 978-80-7418-124-5.
2. Commission Regulation (EU) No 231/2012 of 9 March 2012 laying down specifications for food additives listed in Annexes II and III to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council. Official Journal of the European Union, L 83, 2012, pp. 1–295.
3. Remaud G., Guillou C., Vallet C., Martin G. J.: A coupled NMR and MS isotopic method for the authentication of natural vinegars. *Fresenius J Anal Chem* (1992) 342: 457–461.
4. Caligiani A., Acquotti D., Palla G., Bocchi V.: Identification and quantification of the main organic components of vinegars by high resolution ^1H NMR spectroscopy. *Anal Chim Acta* (2007) 585: 110–119.
5. Thomas F., Jamin E.: ^2H NMR and ^{13}C -IRMS analyses of acetic acid from vinegar, ^{18}O -IRMS analysis of water in vinegar: International collaborative study report. *Anal Chim Acta* (2009) 649: 98–105.
6. Hermann A.: Determination of D/H isotope ratio in acetic acid from vinegars and pickled products by ^2H -NMR-spectroscopy. *Eur Food Res Technol* (2001) 212: 683–686.
7. Waterisotopes.org: Dostupné z: http://waterisotopes.eas.purdue.edu/waterisotopes/pages/data_access/figure_pgs/euro.html (cit. 21.5. 2013).
8. Grégrová A., Čížková H., Mazáč J., Voldřich M.: Authenticity and quality of spirit vinegar: methods for detection of synthetic acetic acid addition. *J Food Nutr Res* (2012) 51: 123–131.

R 29**EMULGAČNÍ VLASTNOSTI PODMÁSLÍ**

Pustelníková L., Štětina J.

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

Summary

In this work, the emulsifying properties of buttermilk (ČP), buttermilk powder (SP) and skimmed milk powder (SOM) were compared. These raw materials were used for the preparing of model emulsions (type oil in water) containing 10%, 20% and 30% of oil. The emulsions were evaluated by measuring the particle size distribution on a particle analyzer Mastersizer 2000.

Souhrn

V práci byly srovnány emulgační vlastnosti čerstvého podmásli (ČP), sušeného podmásli (SP) a sušeného odstředěného mléka (SOM). Z těchto surovin byly připraveny modelové emulze olej ve vodě s obsahem oleje 10 %, 20 % a 30 %. Emulze byly hodnoceny na základě měření distribuce velikosti částic na přístroji Mastersizer 2000.

Úvod

Podmásli je tekutý mléčný výrobek, který se získává jako vedlejší produkt při výrobě másla. Během procesu stloukání smetany dochází k narušování membrán mléčného tuku, což má za následek uvolnění látek s emulgační aktivitou a jejich přechod do vodné fáze, jež je označována jako podmásli.

Široké využití podmásli jako potravinářské suroviny v mlékárenství nebo pekárenství úzce souvisí zejména s jeho složením. Kromě běžných složek mléka, jako je laktóza, bílkoviny, minerály, obsahuje podmásli rovněž fragmenty obalů tukových kuliček mléka (MFGM), které se skládají z polárních lipidů, hlavně fosfolipidů, a bílkovin. Fosfolipidy mají díky své amfifilní struktuře (lipofilní i hydrofilní část) pozoruhodné emulgační vlastnosti a spolu s bílkovinami působí jako stabilizátory emulzí.

Technologické procesy, např. sušení, mohou mít za následek odlišné složení MFGM v mléčných produktech, a tudíž odlišné emulgační vlastnosti těchto materiálů.

Cílem práce byla charakterizace emulgačních vlastností čerstvého tekutého podmásli a jejich následné srovnání s emulgačními vlastnostmi mléčných produktů zpracovaných technologickým procesem sušení, tj. sušeného podmásli a sušeného odstředěného mléka.

Experimentální část

Čerstvé a sušené podmásli bylo získáno ze společnosti Bohemilk a.s., sušené odstředěné mléko ze společnosti Moravia Lacto a.s. Pro přípravu emulzí byl použit olej s vyšším podílem kyseliny olejové, a to Oliol od společnosti Palma a.s.

Suroviny (ČP, SP, SOM) byly charakterizovány na základě parametrů uvedených v tabulce I. Sušina, tučnost a hrubé bílkoviny byly stanoveny běžnými analytickými metodami. Pro charakterizaci emulgačních vlastností surovin bylo rovněž nutné kvantifikovat podíl polární lipidické frakce MFGM, což bylo provedeno semikvantitativní metodou tenkovrstevné chromatografie s plamenoinozačním detektorem.

Tabulka I Charakterizace surovin a použité analytické metody

Složka	Analytická metoda
Sušina	Sušení do konstantní hmotnosti (ČSN 570104-3)
Tučnost	Acidobutyrometrie dle Gerbera (ČSN 570530)
Hrubé bílkoviny	Kjeldahlova metoda (ČSN EN ISO 8968-4)
Polární lipidy	Tenkovrstevná chromatografie s plamenoionizačním detektorem (TLC-FID)

Příprava emulzí

Sušené podmásli a sušené odstředěné mléko byly obnoveny v destilované vodě na obsah tukuprosté sušiny 8,3 %. Obnovené suroviny se nechaly po dobu jedné hodiny stát při pokojové teplotě za účelem správné hydratace bílkovin.

Z jednotlivých ČP, SP, SOM a oleje byly připraveny modelové emulze typu olej ve vodě s obsahem oleje 10, 20 a 30%. K emulgaci olejové fáze bylo použito homogenizační míchadlo Silent Crusher M (Heidolph GmbH, Belgie), které bylo nastaveno na 24 000 otáček za minutu. Emulgace trvala 10 minut.

Stanovení velikosti částic

Vzniklé emulze byly hodnoceny stanovením distribuce velikosti tukových částic metodou laserové difrakce. Měření bylo provedeno na analyzátoru částic Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, UK) s He-Ne laserem (633 nm). Pro Mastersizer 2000 byl použit softwarový program Mastersizer 2000 verze 5.13. Pro vyhodnocení výsledků byl v softwaru zvolen obecný model normálního rozdělení (General purpose).

Velikosti tukových částic byly proměřovány ve dvou prostředích. První způsob měření spočíval v rozptýlení vzorku pouze v prostředí destilované vody. Při druhém způsobu měření byl vzorek smíchán s pufrem v poměru 1:2 (vzorek:pufir) a poté rozptýlen v prostředí destilované vody s přídavkem dodecylsulfátu sodného (SDS) o koncentraci 1 % (hm.) v poměru 10:1 (voda:SDS). Jako pufir byl zvolen roztok soli ethylendiamintetraoctové kyseliny (EDTA) o koncentraci 35 mmol/l a pH 7, které bylo upraveno pomocí hydroxidu sodného. Přídavek EDTA ke vzorku byl nezbytný z důvodu rozpuštění kaseinových micel, SDS přidáný do prostředí pak způsobil rozrušení případných shluků tukových kuliček. Měření v prostředí destilované vody byla získána distribuce velikosti všech částic ve vzorku (agregátů kaseinových micel i tukových kuliček). Druhým způsobem byla sledována vlastní distribuce tukových kuliček.

Měření byly získány parametry charakterizující naměřenou velikost částic ve vzorku. Ve výsledcích jsou uvedeny hodnoty parametru $d(0,5)$ a $D[3,2]$. Hodnota $d(0,5)$ neboli medián udává velikost, při které je 50 % objemu částic menších a 50 % objemu částic větších. Průměrné hodnoty parametru $D[3,2]$, který charakterizuje průměr částice vztažený k ploše částice, byly znázorněny graficky jako plochy mezifázového rozhraní.

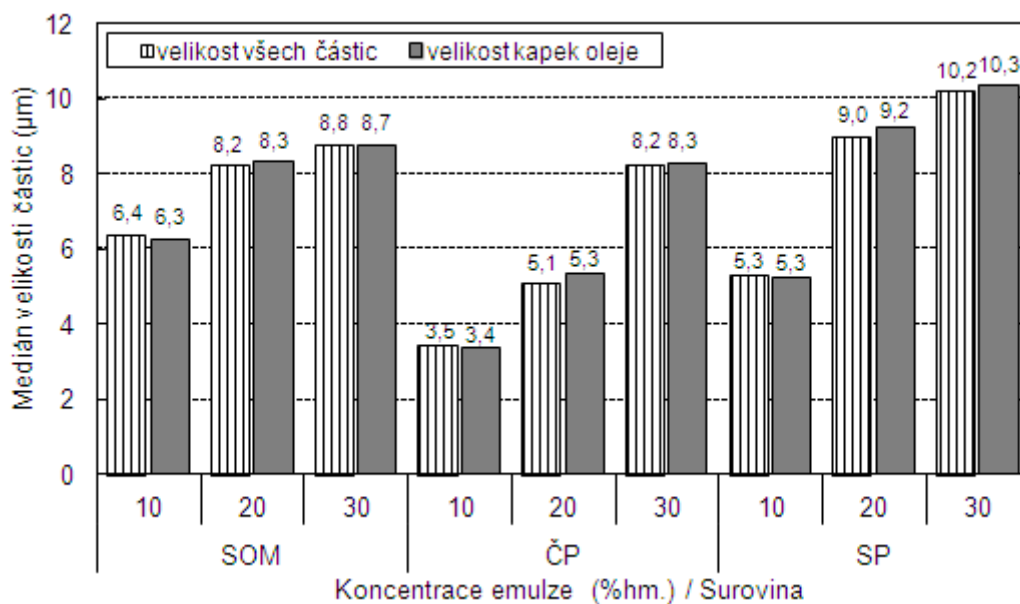
Diskuse a závěry

V emulzích, připravených z jednotlivých surovin, byly pomocí metody laserové difrakce zjištěny rozdíly ve velikostech částic. Na základě stanovení velikosti částic v připravených emulzích v závislosti na koncentraci emulze byly charakterizovány emulgační vlastnosti ČP, SP a SOM.

Na obr. 1 je znázorněna závislost velikosti částic na koncentraci emulze. Naměřené velikosti částic se pohybovaly v rozmezí 3,4 μm až 10,3 μm . Mezi velikostmi všech částic a vlastních kapek olejové fáze byl zjištěn pouze nepatrný rozdíl, v připravených emulzích nebyl tedy zaznamenán vznik agregátů kaseinových micel nebo tukových kuliček.

Nejmenší velikosti tukových částic byly naměřeny v emulzích připravených z ČP, a to 3,4 μm v případě 10 % emulzí, 5,3 μm ve 20 % emulzích a 8,3 μm v 30 % emulzích. Největší velikosti tukových částic byly naměřeny v 10 % emulzích připravených ze SOM, jejichž hodnoty

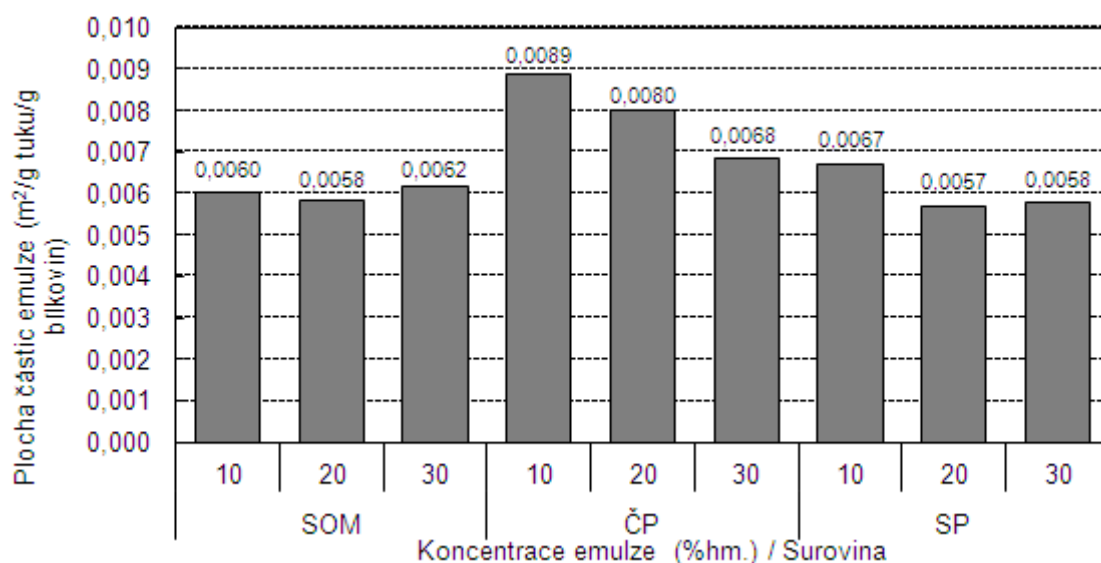
dosahovaly 6,3 μm . V případě 20 % a 30 % emulzí byly naměřeny největší tukové částice u SP s hodnotami velikostí 9,2 μm a 10,3 μm . V emulzích všech testovaných surovin rostla velikost tukových částic se zvyšujícím se obsahem oleje.



Obr. 1. Závislost velikosti částic na koncentraci emulze.

Emulgační aktivita jednotlivých surovin v závislosti na koncentraci emulze byla vyjádřena jako plocha mezifázového rozhraní (obr. 2). Tato plocha byla stanovena jako podíl šestinásobku koncentrace emulze a průměrné hodnoty parametru $D[3,2]$. Obecně platí, že čím jsou menší naměřené velikosti částic, tím zaujímají větší plochu mezifázového rozhraní v disperzním prostředí, a tím by měla být emulze stabilnější.

Z obr. 2 je patrné, že největší plochu mezifázového rozhraní zaujímaly tukové částice v emulzích, připravených z ČP, čemuž odpovídají nejmenší naměřené velikosti těchto částic. Z uvedených výsledků je zřejmé, že nejlepší emulgační vlastnosti vykazovalo ČP.



Obr. 2. Závislost plochy částic emulze na koncentraci emulze.

Dále lze z obr. 2 vidět, že emulgační aktivita SP a SOM byla srovnatelná, protože plochy mezifázových rozhraní tukových částic se příliš nelišily. Zároveň byly plochy mezifázových rozhraní tukových částic v emulzích ze SP a SOM menší než plocha mezifázového rozhraní tukových částic z ČP. Sušené podmásli a SOM prošly technologickým procesem sušení, které pravděpodobně mohlo mít vliv na složení MFGM a mít tak za následek zhoršení jejich emulgačních vlastností v porovnání s ČP.

Literatura

1. Guggisberg D., Chollet M., Schreier K., Portmann R., Egger L.: Effects of heat treatment of cream on the physical-chemical properties of model oil-in-buttermilk emulsions. *Int. Dairy J.* 26, 88-93 (2012).
2. Pierre M., Jiménez-Flores R., Pouliot Y.: Effect of processing on the composition and microstructure of buttermilk and its milk fat globule membranes. *Int. Dairy J.* 17, 1179-1187 (2007).

R 30**HPLC AS A FAST METHOD FOR THE QUALITY CONTROL OF COLOSTRUM**

Skalka V., Čurda L., Vašíčková M.

Ústav mléka, tuků a kosmetiky, VŠCHT v Praze, Technická 3, 166 28 Praha 6

Abstract

Colostrum is first food for young mammals and also valuable food supplement as well as an interesting raw material for biotechnological processing. It contains a number of biologically active and commercially valuable components such as lactoferrin, lactoperoxidase, lysozyme, eukaryotic and prokaryotic growth factors etc. The main targets in the analysis of quality of colostrum are immunoglobulins. In industry these proteins are usually analyzed by radial immunodiffusion which is a simple, but expensive and time consuming method for the determination of immunoglobulins and other protein compounds. HPLC, as we present here, is an alternative method for the quality control of colostrum.

Introduction

Colostrum is unique product which produced during first hours after parturition. Colostrum is required for forming of newborn's immune system. Without colostrum's feeding newborn is doomed to death. This outstanding characteristic of colostrum is determined by concentration of immunoglobulins and another immunoactive compounds. Colostrum contain IgG and IgA, IgM. Except immunoglobulins colostrum contains proline-rich peptides, which have Immunomodulation and immunostimulation activity. Additionally in colostrum are up to ten times higher concentrations of lactoferrin and lactoperoxidase which have antimicrobial activity and another biological active compounds. Because that colostrum is highly required raw material for food production. Additionally colostrum compounds are using in cosmetic production and in sport food.

Immunoglobulins G is most interesting component of colostrum for producer and consumer. Because that immunological methods are used for quality control of colostrum. Traditionally for these purposes radial immunodiffusion (RID) either enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) are used typically for quantification of IgG. This two methods are most sensitive, but have some disadvantages: ELISA required a using monoclonal antibodies to Fc region of IgG, RID analysis requires 24 hours before obtaining result, price per one sample analysis is high, and there is no RID commercial kit for goat IgG analysis. As alternative we decided to try HPLC method for separation of proteins and quality control.

Materials and methods

Samples of cow and goat colostrum were obtained from Ingredia s.r.o (Czech Republic) and Betula Pendula s.r.o. (Czech Republic) respectively. Commercial kit for radial immunodiffusion assay was ordered from ID Biotech (France). All reagents for sample preparation and chromatography processing were prepared with reagents obtained from Sigma-Aldrich. For separation were used next columns: for reverse phase HPLC (RP-HPLC) - Agilent PLRP-S 100Å Column (USA), for size exclusion HPLC (SE-HPLC) - BioSep™ SEC-s2000 column. All separation processes were made on Agilent 1100 HPLC system. Analyses of elution profile were done with using of Agilent ChemStation Software.

Results and discussion

In first stage we decided to try most common RP-HPLC method, which is very sensitive for milk whey proteins separation and quantification. RP-HPLC was suitable for quantification of colostrum most whey proteins. But for colostrum it was not possible to get properly separation for immunoglobulins part, which determinates quality of colostrum (Figure 1).

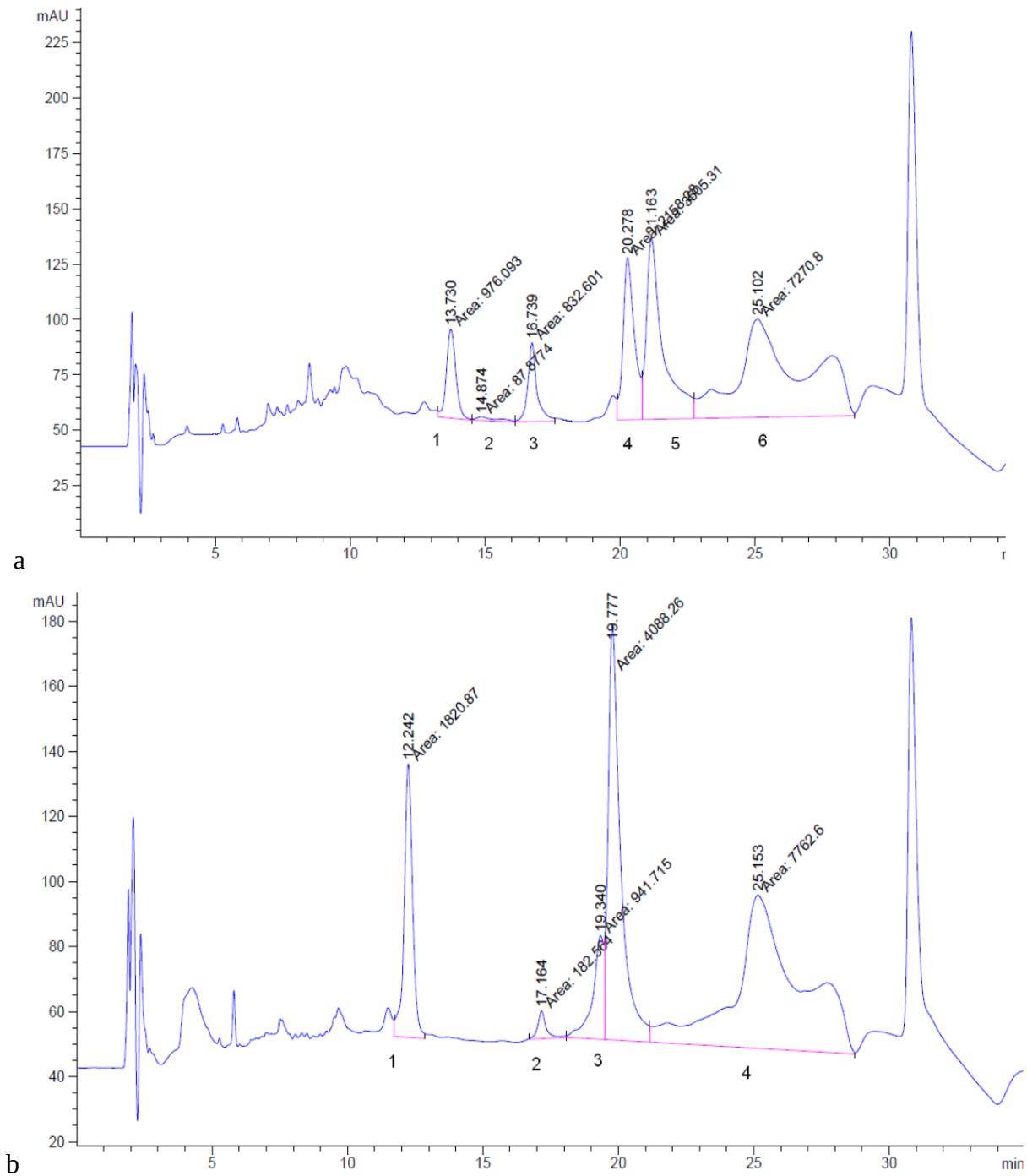


Figure 1. RP-HPLC elution profiles: a – cow colostrum where 1 - α -lactalbumin, 2 - lactoferrin, 3 - BSA, 4 - β -lactoglobulin B, 5 - β -lactoglobulin A, 6 - immunoglobulins; b – goat colostrum where 1 - α -lactalbumin, 2 - BSA, 3 - β -lactoglobulin B, 4 – immunoglobulins.

Because RP-HPLC was not suitable for quantification of IgG of colostrum we tried SE-HPLC, which gave better separation (Figure 2).

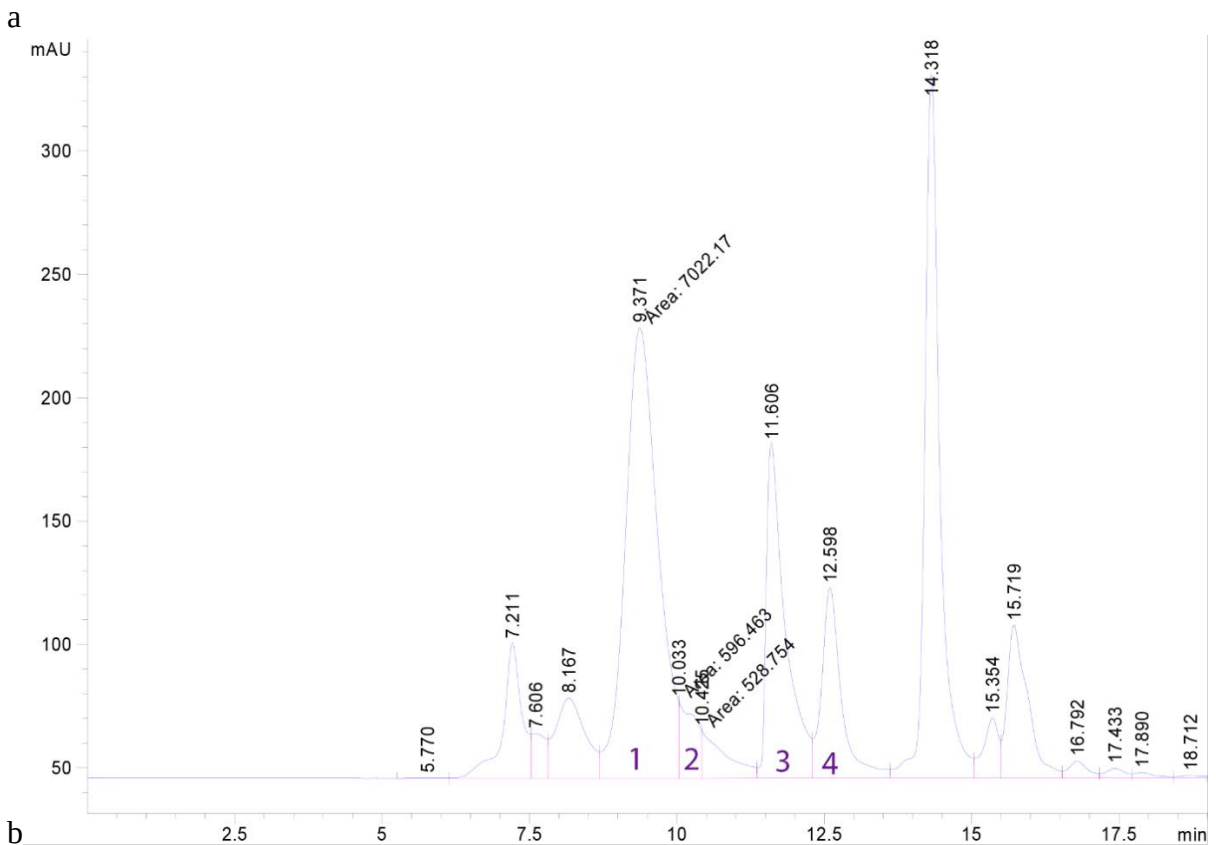
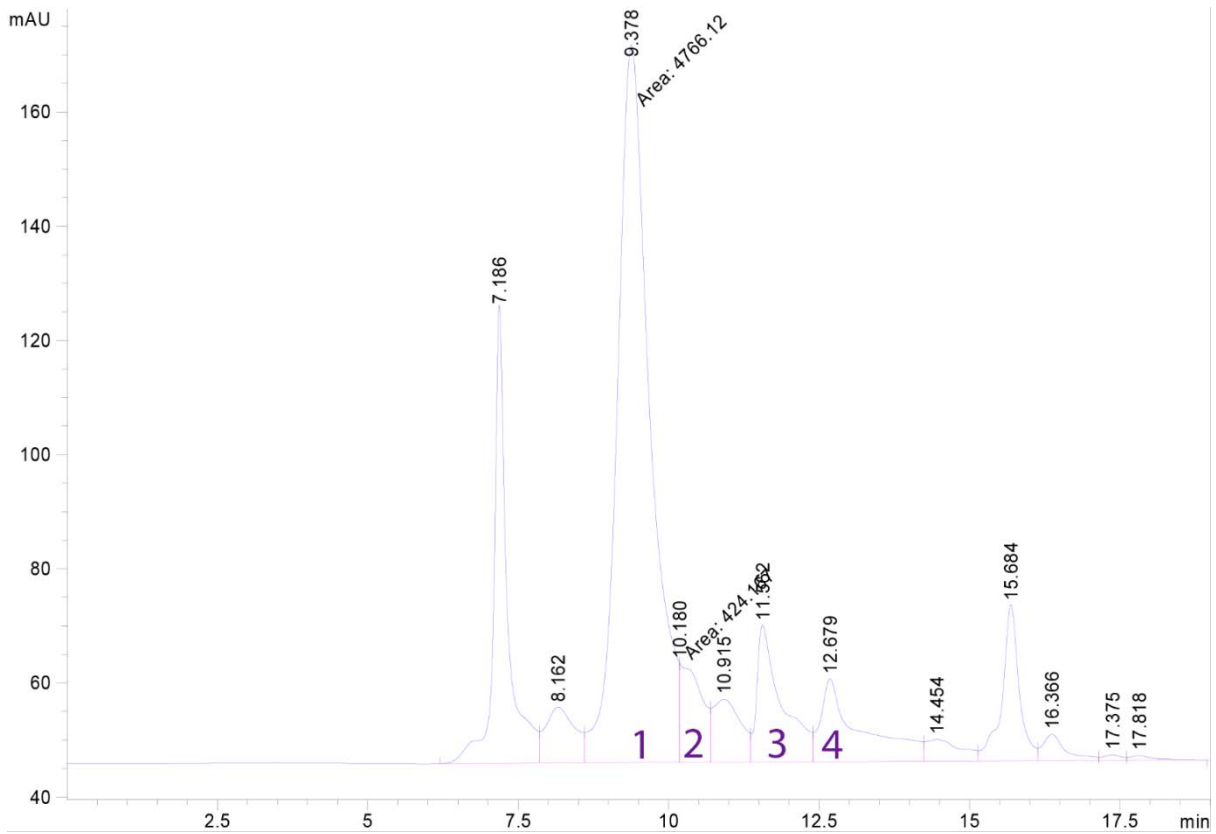


Figure 2. SE-HPLC elution profile of samples, which was prepared from cow (a) and goat (b) colostrum, where 1 - immunoglobulins, 2 - BSA, 3 - α -lactalbumin, 4 - β -lactoglobulin.

Next step was to compare results obtained from analysis of 11 samples of cow colostrum by RID and SE-HPLC. Generally there is clear dependence between RID and SE-HPLC results which is present in Figure 3.

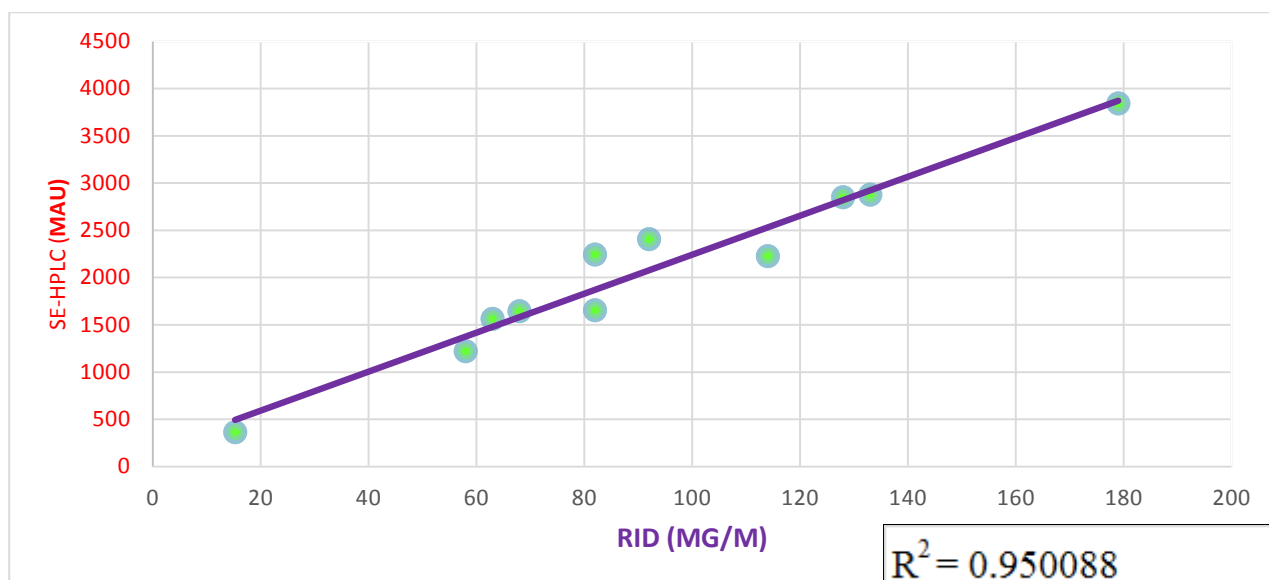


Figure 3. Comparison of SE-HPLC and RID results of cow colostrum analysis.

From self-cost point of view SEC-HPLC is cheapest and faster method for colostrum analysis with next advantages and features:

1. Possible to use nontoxic water based buffer for sample preparation and separation, which don't require specific disposal procedure.
2. Possibility to analyze proteins in fraction after separation without loss of any activity (fermentative or immunological).
3. Time of sample preparation is 45 min.
4. Analysis time 19 min per sample.
5. Possibility to scale up to preparative separation without loss of efficiency.

Conclusions

After series of experiments it was shown that SE-HPLC could be one of the best method for quality control of colostrum, especially in case when it is not possible to use immunological method or method which required processing with toxic components. Additionally using of this method during incoming quality control before colostrum processing can reduce final cost of production without loss of efficiency.

This work was supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (QJ1210376) and by Specific University Research (MSMT no. 21/2013)

R 31**SENZORICKÉ HODNOCENÍ KÁVY**

Panovská Z., Ilko V., Míková K.

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

Úvod

Káva spolu s čajem patří vedle vody mezi nejoblíbenější nápoje v historii lidstva. Káva je také jednou z nejvíce obchodovaných zemědělských komodit na světě. Pěstování kávy se věnuje více než 50 států světa a její produkce neustále stoupá viz tab. 1.

Tab. 1 Produkce kávy v posledních šesti letech

Rok	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Produkce na žoky (60kg, pytle)	116 614	128 622	122 798	133 498	135 934	144 646

V roce 1963 byla založena Mezinárodní organizace pro kávu (ICO The International Coffee Organization), jejímiž členy jsou producenti, dovozci, vývozci kávy apod. Na webových stránkách této organizace <http://www.ico.org/> je možné zjistit o kávě mnoho užitečných informací, např. informace o produkci, vývozu, ale i kvalitě kávy z jednotlivých lokalit a jsou tam diskutovány i vlivy, které kvalitu kávy ovlivňují.

Obecně mezi nejvýznamnější faktory, které ovlivňují vlastnosti kávy patří odrůda, oblast pěstování, metoda zpracování, proces pražení, mletí kávy a její příprava.

V naší legislativě jsou definovány požadavky na jakost kávy v komoditní vyhlášce č. 330/1997 Sb. v platném znění. Pražená zrnková káva by měla mít kávově hnědou barvu a kávovou vůni. Chuť kávového nálevu může být od velmi jemné až po výrazně kávovou, hořkou a nakyslou. Obsah kofeinu v sušině pražené kávy musí být minimálně 0,6 %.

Senzorické hodnocení kávy se v posledních letech zaměřuje hlavně na sledování a určení charakteristik tzv. čisté kávy, tj. kávy z dané lokality, aby se dala lépe posoudit kategorizace výrobků. Konzumenti si začínají více všimnout chuťových vlastností a začínají podle země původu kávu kupovat. Některé vědecké práce se zaměřují na zjišťování, zda tento příklon k nákupu kávy podle země původu je způsoben na základě skutečných rozpoznatelných rozdílů mezi jednotlivými druhy nebo je způsoben spíše reklamou nebo psychickými vlivy.

Senzorické hodnocení kávy je velmi náročné a vyžaduje poměrně dlouhé zaškolení. Nejprve je zaměřeno na hodnocení zelené kávy tj. bobů. Toto hodnocení je již velmi dobře propracované, jsou zavedeny kategorie podle odrůdy, velikosti a zralosti bobů. Samostatnou částí je senzorické hodnocení kávy v závislosti na stupni pražení, protože to významně ovlivňuje vlastní chuť kávy, u slabě pražených káv převažují chutě sladká, kyselá a čokoládová, u káv pražených na střední stupeň se zvýrazní palčivá chuť a hořká a u silně pražených káv se navíc zvýrazní oříšková chuť. Během pražení vzniká stovky látek (literatura uvádí kolem 800) a vědci se snaží zjistit, které mají na chuť a vůni největší vliv. Většinou se jedná o látky ze skupiny alifatických pyrazinů (2-isopropylpyrazin; 2-ethyl-3,5-dimethylpyrazin), furanů (3-hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furan-2-on (sotolon) a fenolů (vanillin, 4-vinylguajakol).

Běžný spotřebitel však často kupuje kávu umletou a nemůže proto tyto kategorie posoudit. Nemá většinou ani informace z jaké lokality káva pochází ani jakou odrůdu kupuje. Veškeré informace získává pouze z obalu. Na obalu musí být uveden název výrobku podle komoditní vyhlášky č. 330/1997 Sb. v platném znění, kdo ji uvádí na trh, množství a případně návod jak kávu připravit. Tento údaj se uvádí pouze tehdy pokud by spotřebitel nesprávnou přípravou mohl znehodnotit výrobek. Údaj o složení není povinný, ale některé firmy dobrovolně uvádí zda se jedná o kávu Arabica nebo Robusta nebo jejich směs. Výživové hodnoty nemusí být uváděny (káva

patří mezi 19 výjimek uvedených v nařízení 1169/2011/EU) stejně jako země původu. Vliv na udržení sensorických vlastností má i způsob balení (vakuum, běžná atmosféra), protože při nesprávném balení a skladování může káva žluknout a ztratit vonné látky.

Experiment

Cílem naší práce bylo sensorické porovnání 27 vzorků mletých káv z běžného trhu v ČR a sledování rozdílů mezi posuzovateli v sensorickém hodnocení intenzity a příjemnosti kyselé, hořké a trpké chuti. Sensorické hodnocení probíhalo v sensorické laboratoři vybavené boxy podle mezinárodní normy ISO 8589. Předkládání vzorků bylo ve shodě s ISO 6658. Příprava vzorků vycházela z normy ČSN ISO 580113. Tato norma je bohužel platná od roku 1.1.1971. Je tudíž už zastaralá, nezohledňuje změny na trhu týkající se druhů kávy ani to, pro jakou další přípravu je káva určena. Postup přípravy vzorků byl tak jednotný pro všechny vzorky, tj. 20 g rozemleté zrnkové kávy na 400 ml vody. Příprava nálevu vycházela z běžného spotřebitelského postupu, tj. káva byla zalita horkou vodou, zamíchána a nechána 5 minut odstát, poté byla filtrována přes hustší sítko. Připravený nálev se podával v kádinkách v množství 50 ml. Teplota nápoje byla cca 60 °C. Pro všechny kávy byla použita stejná voda. Hodnotitelé byli vybráni, vyškoleni a monitorováni podle mezinárodních ISO norem. Kávu hodnotil nejméně 6 členný odborný panel (u většiny vzorků byl panel rozšířený o další členy).

Každý hodnotitel dostal zakódované kádinky a měl ohodnotit vybrané deskriptory na grafické stupnici tj. příjemnost vůně, intenzitu vůně, příjemnost chuti, intenzitu chuti, intenzitu hořké, trpké, nakyslé a bahnité chuti. Při jednom sezení byly předkládány 3 vzorky.

Výsledky

Výsledky jednotlivých profilů káv jsou shrnuty v tabulkách 1-3. Čísla v tabulce jsou procentuální hodnoty z dané vlastnosti.

Tab.1 Profil vzorků káv 1-10

Profil vzorků 1-10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
příjemnost vůně 0 = odporná, 100 = vynikající	60,5	58,2	50,5	40,0	58,2	48,2	48,8	50,7	50,8	31,0
intenzita vůně 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	50,5	53,0	43,8	33,3	48,2	41,5	42,1	40,6	48,0	44,6
celková příjemnost chuti 0 = odporná, 100 = vynikající	44,1	56,8	41,7	41,8	43,7	41,7	50,8	49,2	46,5	26,3
intenzita chuti 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	62,9	57,0	53,3	41,6	55,1	60,1	51,9	51,0	56,8	64,4
hořká chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	63,8	48,2	50,6	44,3	47,1	61,7	72,8	49,6	59,1	68,1
trpká chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	42,7	33,7	40,4	27,4	31,6	41,1	43,6	25,7	25,5	48,9
nakyslá chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	28,5	29,5	40,0	35,6	45,1	25,2	30,5	34,8	20,2	19,3
bahnitá chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	28,1	19,0	25,0	28,1	24,4	28,2	36,7	18,2	25,6	24,7

Tab.2 Profil vzorků káv 11-20

Charakteristika	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
příjemnost vůně 0 = odporná, 100 = vynikající	42,7	57,7	53,6	58,9	50,8	45,6	47,9	62,8	53,0	48,5
intenzita vůně 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	35,7	40,3	56,6	53,0	44,8	46,4	37,2	51,6	55,8	43,8
celková příjemnost chuti 0 = odporná, 100 = vynikající	31,4	44,2	40,0	58,0	33,1	38,5	43,2	44,8	43,0	44,5
intenzita chuti 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	55,2	45,0	51,6	54,9	53,6	38,9	44,1	67,5	63,8	47,7
hořká chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	55,5	32,3	60,0	61,9	43,9	39,4	52,4	64,2	68,5	50,8
trpká chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	44,7	24,0	44,4	32,0	33,5	33,8	30,7	31,8	50,1	28,5
nakyslá chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	25,4	20,2	39,9	13,6	60,2	43,1	34,4	43,5	22,8	36,7
bahnitá chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	32,0	19,7	27,7	11,6	28,2	14,8	37,5	17,2	28,6	17,7

Tab.3 Profil vzorků káv 21-27

Charakteristika	21	22	23	24	25	26	27
příjemnost vůně 0 = odporná, 100 = vynikající	49,3	36	40,1	53,7	57,3	46,1	54,7
intenzita vůně 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	45,3	46,5	29,5	49	51,2	45,8	49,1
celková příjemnost chuti 0 = odporná, 100 = vynikající	42,8	22,2	31	40,2	38,8	40,8	46,1
intenzita chuti 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	52,4	59,2	60,9	57,3	55,2	54,6	56,3
hořká chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	42,6	61,7	59,3	71	54,6	53,3	47,3
trpká chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	33,8	51,4	35,3	41,1	33,4	39,7	34,3
nakyslá chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	58,4	27,2	29	14,1	34,9	26,9	36
bahnitá chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	23,5	49,4	28	30,9	28,6	24,8	23,5

V tabulce 4 jsou zobrazeny nejvyšší a nejnižší hodnoty pro danou vlastnost.

Hodnocení všech vzorků bylo shrnuto do tabulky 5, kde jsou některé hodnocené parametry rozděleny do kategorií podle % stupnice, tj. 1 kategorie 10-30 %, 2 kategorie 30-40 %, 3 kategorie 40-50 %, 4 kategorie 50-60 % a 5 kategorie 60 a více procent.

Vzorky 2, 7, 14 patřily ke vzorkům s nejpříjemnější chutí, káva byla výrazně hořká, slabě kyselá a průměrně nebo slabě trpká.

V kategoriích podle příjemnosti chuti byly 2 vzorky zařazené jako nejméně chutné, 6 vzorků jako nepříliš chutných, 16 vzorků bylo průměrných a 4 velmi dobré. V kategorii výborných, tj. nad 70% stupnice, nebyl zařazen žádný vzorek.

Tab. 4 Nejvyšší a nejnižší hodnoty pro danou vlastnost

	Nejnižší hodnota	Nejvyšší hodnota	Rozdíl nejvyšší - nejnižší hodnota
příjemnost vůně 0 = odporná, 100 = vynikající	31	62,8	31,8
intenzita vůně 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	29,5	56,6	27,1
celková příjemnost chuti 0 = odporná, 100 = vynikající	22,2	58	35,8
intenzita chuti 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	38,9	67,5	28,6
hořká chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	32,3	71	32,3
trpká chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	24	51	27
nakyslá chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	13,6	60,2	46,6
bahnitá chuť 0 =neznatelná , 100 = velmi silná	11,6	49,1	37,5

Závěr

Balené mleté kávy dostupné na trhu měly průměrnou, ale poměrně vyrovnanou chuť. Hodnoty u většiny vybraných parametrů nepřesahovaly 70 % stupnice. Odpovídá to faktu, že kvalitní káva s výraznou chutí se získá, pokud je čerstvě upražená a umletá těsně před přípravou. Hodnocené kávy byly již umleté a tím se ztrácí jemná chuť a vůně jako např. oříšková, cereální, kakaová apod., které se hodnotí u velmi kvalitních káv. Hodnotitelé se ve vnímání chutí poměrně lišili. Nejvyšší rozdíl byl ve vnímání intenzity kyselé chuti. V kávě jsou přirozeně obsaženy různé kyseliny, např. citronová, jablečná, chlorogenová, mravenčí a octová kyselina, a jejich obsah se liší podle druhu kávy a vliv má i pražení kávy.

Poděkování

Tato práce vznikla za podpory grantu MSM 6046137305.

Tab. 5 Rozdělení vzorků do kategorií.

Vzorky	Příjemnost chuti	Intenzita hořké chuti	Intenzita kyselé chuti	Intenzita trpké chuti
1	3	5	1	3
2	4	3	1	2
3	3	4	2	3
4	3	3	2	1
5	3	3	3	2
6	3	5	1	3
7	4	5	2	3
8	3	3	2	1
9	3	4	1	1
10	1	5	1	3
11	2	4	1	3
12	3	2	1	1
13	3(2)	4-5	2	3
14	4	5	1	2
15	2	3	5	2
16	2	2	3	2
17	3	4	2	2
18	3	5	3	2
19	3	5	1	4
20	3	4	2	1
21	3	3	4	2
22	1	5	1	4
23	2	4	1	2
24	3	5	1	3
25	2	4	2	2
26	3	4	2	2
27	3	3	1	2

Literatura

- Feria-Morales A.M.: *Examining the case of green coffee to illustrate the limitations of fuzzy logic systems in sensory evaluation for quality control*. Food Quality and Preference (2002) 13 355–367.
- Lazim M.A., Suriani M.: *Sensory Evaluation of the Selected Coffee Products Using Fuzzy Approach*. World Academy of Science, Engineering and Technology, (2009) 26, 717-720.
- Mayer F., Czerny M., Grosch W.: *Sensory study of the character impact aroma compounds of a coffee beverage*. Eur Food Res Technol. (2000) 211:272–276.
- Lo'pez-Galilea I, Fournier N, Cid C, Guichard E *Changes in headspace volatile concentrations of coffee brews caused by the roasting process and the brewing procedure*. J Agric Food Chem (2006) 54:8560–8566
- Schlich P.: *What are the sensory differences among coffees? Multi-panel analysis of variance and flash analysis*. Food Quality and Preferences . (1998) Vol. 9, No. 3, pp. 103-106.
- ČSN EN ISO 13299. *Senzorická analýza - Metodologie - Všeobecné pokyny pro vytvoření senzorického profilu*. 2010
- ČSN EN ISO8589. *Senzorická analýza - Obecné pokyny pro uspořádání senzorického pracoviště*. 2008.
- ČSN EN ISO8589. *Senzorická analýza - Obecná směrnice pro výběr, výcvik a sledování činnosti posuzovatelů - Část 2: Odborní senzoričtí posuzovatelé* 2008.

R 32**MOŽNOSTI PRŮKAZU AROMATIZACE MEDU**

Čížková H., Grégrová A., Kružík V., Voldřich M.

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

Úvod

Med je velmi často falšovaná potravina v celé historii jeho získávání a ověřování autenticity a odhalování falšování medu je stále aktuální. Primitivní metody falšování jako je masivní ředění medu cukrem nebo cukernými sirupy, vydávání aromatizovaného sirupu za med jsou už překonány; objevují se spíše sofistikované způsoby porušování autenticity u větších výrobců a dovozců, které ještě více než spotřebitele ohrožují poctivé výrobce, umožňují dosažení neodpovídajících cen a mohou být hrozbou pro vyspělé české včelařství.

Do medu se při uvádění na trh nesmějí přidávat žádná aditiva ani složky jiné než med. Z průzkumu trhu však vyplývá, že aromatizace medu může být jedním ze způsobů klamání spotřebitele, při kterém je smyslově nevyhovující med (nebo dokonce cukerným sirupem falšovaný med) obohacen umělým medovým aromatem.

Cílem práce bylo ověřit postup průkazu aromatizace medu založený na stanovení profilu těkavých látek metodou SPME/GC/MS. Výsledky získané pro soubor komerčně dostupných medových aromat, autentických medů a medů z tržní sítě byly statisticky zpracovány a korelovány s výsledky senzorické analýzy.

Materiál a metody

V rámci projektu bylo analyzováno 50 vzorků medů, zastoupeny byly květové i medovicové medy. Medy pocházely jak z České republiky, tak ze zemí Evropské unie, případně ze zemí mimo Evropskou unii. Všechny analyzované medy byly běžně komerčně dostupné, 9 vzorků bylo autentických, původem z ČR; ostatní byly neznámé kvality.

Současné bylo proměřeno 16 vzorků medových aromat od různých výrobců. Vzorky se lišily v použitém rozpouštědle/nosiči i v doporučeném dávkování. Seznam medových aromat je uveden v tabulce 1.

Tabulka1: Specifikace analyzovaných medových aromat

Medové aroma	Výrobce	Doporučené dávkování
Medové aroma 720 PG (54170)	Aroco	100g /100 kg
Medové aroma 577 (51240)	Aroco	100g/100kg
Medové aroma 577 PG (54168)	Aroco	100g/100kg
Medové aroma nepěnicí (51245)	Aroco	100g/100kg
Honey flavour 03664	Stockmeier food	1,0-2,0 g/kg
Honey flavour 05172	Stockmeier food	0,3-0,5 g/kg
Honey flavour 08536	Stockmeier food	1,0-2,0 g/kg
Honey flavour liquid 15024778	IFF	od 0,05 %
Honey Flavour liquid 15061222	IFF	0,10 %
Honey 02 036	Neznámý	není specifikováno
Honey 02 609	Neznámý	0,5g/l nebo 0,1g/l
Honey 02 916	Neznámý	0,1-2,0 g/kg
Optamint honig aroma	Symrise AG	není specifikováno
Med Aroma – 201061	Dohler	0,25-0,5 g /1000 l
Honig Aroma SD	Akras Bohemia	50-100g/100kg
Frujo a.s. ar. 03664	Frujo a.s.	0,1-0,15g/l nápoje

Analýza těkavých látek metodou SPME/GC/MS: 1 g vzorku medu nebo 1,7 ml roztokem NaCl naředěného aroma bylo naváženo do 10ml vialky. Dále byl přidán 1 ml 20 % roztoku NaCl a 7 µl 0,001 % methanolického roztoku benzofenonu (IS), obsah byl následně promíchán.

Izolace látek na DVB/CAR/PDMS vlákne probíhala za těchto podmínek:

SPME inkubace: 15 min při teplotě 60 °C

SPME extrakce: 30 min při teplotě 60 °C.

SPME desorpce: 4 min při 240 °C

Vlastní stanovení na systému GC Agilent Technologies 7890A, autosampler CTC Analytics, Pal system; detektor: Agilent Technologies 5975, kolona HP-5MS (30 m x 250 µm x 0,25 µm).

Senzorická analýza byla uskutečněna formou hedonického hodnocení (hodnocení příjemnosti vůně -1 vynikající, 5 nevyhovující).

Výsledky a diskuse

Jako dominantní složky medových aromat byly stanoveny estery kyseliny fenyloctové. Konkrétně se jednalo o methyl a ethyl ester této kyseliny, další sloučeniny se v aromatech vyskytovaly v minoritním množství (tabulka 2). Profily těkavých látek byly vždy méně bohaté než medech, ale bohužel se většina látek identifikovaných v aromatech vyskytovala i ve vzorcích autentických medů. Vzhledem k této skutečnosti byl problém určit konkrétní sloučeniny, které by sloužily jako spolehlivé markery aromatizace.

Tabulka 2: Obsah a zastoupení vybraných těkavých látek v medových aromatech

Sloučenina	Koncentrace (mg/ml)			Zastoupení (%)		
	Min	Max	Průměr	Min	Max	Průměr
Fenylethyl alkohol	0,1	0,8	0,4	0,1	3,0	0,4
Methyl ester kyseliny fenyloctové	1,2	113,7	30,3	0,2	98,3	49,0
Ethyl ester kyseliny fenyl octové	0,1	176,7	34,2	0,1	96,4	54,8
Triacetin	0	0,2	0,2	0	0,6	0,5

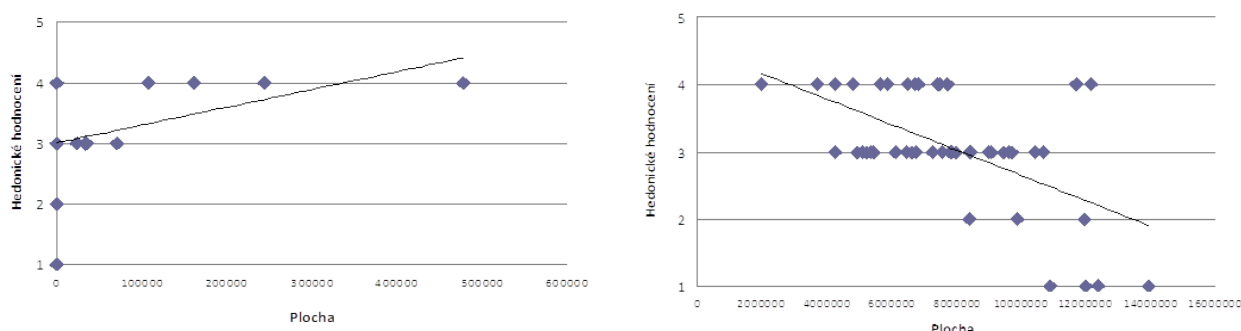
V medech bylo identifikováno 35 hlavních sloučenin v souladu s literárními údaji. Z identifikovaných sloučenin se v nejvyšších koncentracích vyskytoval benzaldehyd a hotrienol. Mezi nalezenými látkami byl u sedmi vzorků také triacetin, který se využívá jako nosič syntetických aromat. Jeho přítomnost napovídá, že med je aromatizován. Na základě vybraných těkavých látek (furfural, benzaldehyd, 2-fenylacetaldehyd, linalool oxid, p-cymenen, hotrienol, fenylethylalkohol, methylester kyseliny fenyloctové) a jejich obsahů a zastoupení v autentických vzorcích (tabulka 3) byly nalezeny vzorky medů, které byly pravděpodobně naředěné, intenzivně zahříváné nebo aromatizované. U pěti vzorků medu byl zjištěn zvýšený obsah furfuralu, který podobně jako hydroxymethylfurfural, indikuje záhřev nebo dlouhodobé skladování vzorku. Velmi nízké koncentrace většiny těkavých látek u dvou vzorků indikují vytékání látek během záhřevu nebo skladování nebo významné naředění cukernou složkou. Jeden vzorek měl zcela atypický profil a relativně vysoký obsah esteru kyseliny fenyloctové, čímž se stal podezřelým z přídavku aroma.

Současně bylo zjištěno, že existují značné rozdíly v profilech těkavých látek mezi českými medy a medy ze zemí mimo EU.

Výsledky senzorického hodnocení byly korelovány se zjištěným obsahem triacetinu, nosiče aroma. Z obrázku 1a vyplývá, že jeho přítomnost, respektive pravděpodobné použití medového aroma, negativně ovlivnilo hodnocení příjemnosti vůně vzorků, protože hodnotitelé považovali tuto vůni za pro med netypickou a umělou. Vliv celkového obsahu těkavých látek na hedonické hodnocení je znázorněn na obrázku 1b, u většiny vzorků platí, že čím více těkavých látek, tím je vzorek hodnocen lépe. Výjimku z tohoto pravidla tvoří vzorky s vysokým obsahem furfuralu, methylesteru kyseliny fenyloctové a některé vzorky obsahující triacetin.

Tabulka 3: Obsah a zastoupení těkavých látek v autentických medech

Sloučenina	Koncentrace (mg/kg)			Zastoupení (%)		
	Min	Max	Průměr	Min	Max	Průměr
Furfural	5,0	69,5	25,1	1,3	6,9	3,9
Benzaldehyd	11,6	353,6	116,2	9,6	24,2	15,1
2-fenylacetaldehyd	4,5	47,3	20,6	2,1	4,2	3,3
Linalool oxid	1,3	41,6	15,9	0,7	2,9	1,7
p-cymenen	1,1	54,7	19,9	0,7	5,4	2,5
Hotrienol	5,7	113,5	42,6	2,7	24,7	7,8
Fenylethylalkohol	2,5	83,4	32,2	1,7	6,7	4,2
methyl ester kyseliny fenyloctové	0,6	14,09	5,1	0,43	1,38	0,8

Obrázek 1: Závislost výsledku hédonického hodnocení na zjištěném obsahu triacetinu (a), na celkovém obsahu těkavých látek (b)

Závěr

Při využití postupu stanovení profilu těkavých látek lze prokázat aromatizaci medu jen u extrémních vzorků medu falšovaných významným naředěním medu škrobovým sirupem nebo použitím nevhodného aroma nebo jeho nadměrný přídavek. Podezřelé a hraniční vzorky by bylo vhodné zkontrolovat i z pohledu základních kvalitativních požadavků příslušné komoditní vyhlášky, případně analyzovat dalšími pokročilými instrumentálními metodami, např. analýzou stabilních izotopů.

To, že se falšování medu vyplatí, ukazuje následující bilance: Většinou výrobce vychází z dovozového medu (např. z Číny), který splňuje základní legislativní požadavky. Další surovinou pro výrobu jsou škrobové sirupy, nejlépe z C3 rostlin. Naředění sirupy významně sníží cenu výrobku, ale dojde i k potlačení charakteristické vůně tj. snížení obsahu těkavých látek. Tuto situaci vyřeší přídavek syntetického medového aroma. Z tabulky 4 je patrné, jak se výrobcům tímto způsobem daří velmi podstatně snížit cenu výrobků.

Tabulka 4: Ekonomická bilance autentického a aromatizovaného medu

Složka	Dávkování	Cena (Kč)
Med z dovozu*	70 %	≈ 32,0
Škrobový sirup*	30 %	≈ 5,2
Medové aroma*	0,005 %	≈ 2,0
Aromatizovaný med (výroba)		≈ 39,2/kg
Autentický med ČR (výroba)		70,7/kg**
Prodejní cena medu		144/kg

* cena aroma: 200 Kč/kg
škrobové sirupy: 16,0 až 17,3 Kč/kg
výrobní cena medu - Čína: 40,9 Kč/kg

** pro rok 2010

Poděkování

Výzkum byl financován z projektu MZe č. QI91B283.

Použitá literatura

El-Biale N. M., Sorour M. A.: Effect of adulteration on honey properties. International Journal of Applied Science and Technology, 2011, Vol. 1, p. 122-133.

Pérez R. A., Sánchez-Brunete C., Calvo R. M., Tadeo J. L.: Analysis of Volatiles from Spanish Honeys by Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, Vol. 50, p. 2633-2637.

Vyhláška č. 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony.

www.vcelarstvi.cz/statistika.html

www.faostat3.fao.org

P 1**NETRADIČNÍ PLODINY PRO FORTIFIKACI CEREÁLNÍCH VÝROBKŮ**

Hofmanová T., Hrušková M., Švec I.

Ústav sacharidů a cereálií, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha

Úvod

V dnešní době se zvyšuje zájem spotřebitelů o alternativní cereální výrobky. V této oblasti leží potenciál zejména v netradičních, lokálně pěstovaných a užívaných plodinách, které mají příznivé nutriční složení a možný pozitivní vliv na lidské zdraví.

Amarant, známý pod názvem laskavec, je z nutričního hlediska zajímavý především vysokým obsahem bílkovin (cca 15 %) s vyšším obsahem lysinu a tím lze vyvážit nedostatek této aminokyseliny v cereáliích. Dobré nutriční složení amarantu se také vyznačuje významným množstvím vlákniny, tuků a minerálních látek (Escudero *et al.*, 2004).

Quinoa je stejně jako amarant pseudocereálie pocházející z Jižní Ameriky. Semeno obsahuje vyšší množství bílkovin (14 – 20 %) s dobrou stravitelností a příznivým aminokyselinovým složením (vyšší obsah lysinu, methioninu a cystinu). Quinoa má i vyšší množství minerálních látek a vitaminů (Jancurová *et al.*, 2009), ale z hlediska složení tuku se výrazně neliší od ostatních druhů obilovin.

Lupina byla tradičně pěstována v Jižní Americe a nyní je nejvíce rozšířena v Austrálii. Mezi důvody pro pěstování lupiny patří schopnost zúrodnit půdu, užití ve výživě a krmivech. Semeno lupiny je složeno z 30 – 40 % bílkovin, 10 % tuku, 3 % popela a až 50 % vlákniny (Písaříková a Zralý, 2010). Na rozdíl od jiných cereálií obsahuje více lysinu, ale nižší množství sirných aminokyselin.

Konopí je významnou průmyslovou plodinou zejména kvůli technickému uplatnění a vysokému obsahu oleje a vlákniny. Konopné semeno má 20 – 25 % bílkovin, 20 – 30 % sacharidů, 25 – 35 % tuku a 10 – 15 % nerozpustné vlákniny. Nutriční přínos konopí je zajímavý i z hlediska zastoupení minerálních látek (Dimic *et al.*, 2009).

Rosička je tropická plodina z Etiopie. Z hlediska obsahu minerálních látek je přínosný vysoký obsah železa, vápníku a hořčíku (Hager *et al.*, 2012). Bílkoviny v semenu rosičky patří z větší části do skupiny prolaminů a vyznačují se vysokou stravitelností, ale obsahují nízké množství lysinu.

Chia pochází z Mexika a pěstuje také v Jižní Americe. Semeno obsahuje 16 – 26 % bílkovin s výborným aminokyselinovým složením. Výživově je zajímavý i vysoký obsah tuku (30 – 34 %) s podílem nenasycených mastných kyselin (linolová a linoleová). Chemické složení chia je charakterizováno vysokým obsahem vlákniny (24 – 41 %).

Cílem práce bylo porovnat dostupné netradiční plodiny ve formě mouky z hlediska jejich možného využití k fortifikaci pšeničného pečiva.

V Tab. 1 je shrnuto chemické složení hodnocených netradičních plodin z různých literárních zdrojů (součty složek proto neodpovídají 100 %). Z hodnot vyplývá, že nejlepším zdrojem pro fortifikaci bílkovinami je lupina. Nejvyšší množství sacharidů lze najít v semenu konopí. Z hlediska zastoupení

Tab. 1 Složení netradičních plodin (průměrné hodnoty z literatury)

	Bílkoviny (%)	Sacharidy (%)	Tuk (%)	Vláknina (%)
Amarant^a	17	66	6	21
Quinoa^b	17	69	6	4
Lupina^c	39	35	7	15
Konopí^d	25	28	36	28
Rosička^e	12	63	2	3
Chia^f	20	34	32	24

^a (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010), ^{b, c} (Jancurová *et al.*, 2009), ^d (Callaway, 2004)

^e (Dimic *et al.*, 2009), ^f (Mohdi Ali *et al.*, 2012)

tuku a vlákniny jsou nutričně přínosné semena chia a konopí.

Materiál a metody

Vzorek amarantu původem Indie (A) a quinoi pocházející z Ekvádoru (Q) jsou z obchodu Country Life. Vzorky hladké mouky byly pro analýzu připraveny mletím semen na mlýnku Concept (typ KM – 5001). Lupina (produkci z Rakouska) byla ve formě hladké mouky (L) připravena ve firmě Natura Jihlava. Vzorky hladké konopné mouky K1, K2 a K3 pochází ze sklizně 2010. Konopná mouka K3 byla získána v bio kvalitě (Hanf & Natur, Německo). Vzorky K1 a K2 jsou z konvenční zemědělské výroby ZD Chrašnice. Další dva vzorky celozrnné konopné mouky byly připraveny z loupaných (K4) a neloupaných (K5) semen v laboratoři (Hemp Production CZ). Bílý a hnědý druh rosičky krvavé byl použit k přípravě vzorků hladké mouky (R1 a R2) (Tobia Teff UK Ltd.). Světlá (CH1) a tmavá (CH2) chia semena (země původu Mexiko) sloužila pro přípravu celozrnné mouky (Aida Organic CZ). Vzorky netradičních plodin byly pořízeny pouze pro účel výzkumu.

Množství popela bylo zjištěno spalováním vzorku při 900 °C (ČSN 56 0512-8). Obsah bílkovin byl stanoven pomocí Kjeldahlovy metody (ČSN 56 0512-12), faktor pro výpočet 6,25. Množství celkové (TDF), rozpustné (SDF) a nerozpustné vlákniny (IDF) bylo stanoveno pomocí enzymaticko-gravimetrické metody pomocí enzymatických kitů Megazyme (AOAC 985.29). Rezistentní škrob (RS) byl změřen podle metody AOAC 2002.02 s použitím enzymů Megazyme. Vzorky s vysokým obsahem tuku byly před stanovením RS odtučněny extrakcí s hexanem, po které byl pevný podíl oddělen na centrifuze. Zkoušky byly opakovány dvakrát.

Výsledky a diskuze

Bílkoviny

Bílkoviny jsou důležitou nutriční složkou mlýnských a pekařských výrobků. Téměř všechny vzorky netradičních semen obsahovaly vyšší množství bílkovin v porovnání s pšeničnou moukou (Tab. 2). Pro oba vzorky rosičky a quinoi (10,0; 11,0 a 13,5 %) byly zjištěny nižší hodnoty odpovídající složení pšeničné mouky. Uvedené výsledky jsou relevantní hodnotám publikovaných jinými autory (Hager *et al.*, 2012). Velký rozptyl výsledků byl pozorován pro konopné produkty, kde se obsah bílkovin pohyboval v rozmezí od 23,7 do 32,8 %. Nižší hodnoty (20 – 25 %) byly zjištěny v rámci výzkumů Callaway (2004) a Dimic *et al.*, (2009). Amarant obsahoval 20,3 % bílkovin, což je mírně vyšší hodnota, než se uvádí v odborné literatuře (Escudero *et al.*, 2004; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010). Očekávané množství bílkovin (20,2 %) bylo stanoveno v chia mouce (Mohd Ali *et al.*, 2012). Lupina obsahovala ze všech testovaných vzorků nejvyšší množství bílkovin. Ostatní studie uvádějí v případě lupiny vyšší i nižší množství a variabilitu složení semen lze vysvětlit podmínkami pěstování.

Popel

Obsah popela koresponduje s množstvím minerálních látek ve vzorku. Jako nutričně přínosné se v tomto ohledu ukázaly vzorky konopné mouky, kde byl popel zjištěn v rozpětí 6,44 – 8,05 % (Tab. 2). Callaway (2004) uvádí nižší množství minerálních látek v semenech konopí (5,6 %). Pro ostatní testované vzorky se minerální látky pohybovaly od 2,20 do 4,20 % a výsledky odpovídají datům publikovaným v jiných výzkumech (Hager *et al.*, 2012; Mohd Ali *et al.*, 2012). Všechny vzorky netradičních semen obsahovaly vyšší množství minerálních látek než pšeničná mouka světlá a mohou tak být považovány za nutričně přínosné.

Tab. 2 Chemické složení netradičních plodin

	Popel (%)	Bílkoviny (%)	RS (%)	IDF (%)	SDF (%)	TDF (%)
A	3,20	20,3	0,5	12,73	3,2	16,76
Q	2,20	13,5	0,2	12,88	4,82	15,37
L	3,90	36,9	0,1	24,46	6,25	39,37
K1	7,07	27,0	0,3	7,94	4,39	12,27
K2	7,51	26,8	0,3	7,89	4,3	12,21
K3	8,05	32,8	0,3	8,58	3,98	11,74
K4	7,31	29,3	0,3	8,49	4,02	11,92
K5	6,44	23,7	0,3	8,01	4,29	12,63
R1	2,43	10,0	0,7	4,59	2,52	7,39
R2	2,32	11,0	0,3	4,76	2,61	7,48
CH1	4,20	20,2	0,4	21,71	8,18	30,23
CH2	3,60	20,2	0,4	22,05	8,41	30,62

Rezistentní škrob

Rezistentní škrob je nestrávitelná část škrobových polysacharidů, která má funkční vlastnosti podobné rozpustné vláknině. Ve zkoumaných vzorcích bylo nalezeno pouze nízké množství rezistentního škrobu (0,1 – 0,7 %) a nelze proto předpokládat větší přínos pro nutriční obohacení pšeničných mouk (Tab. 2).

Vláknina

Z hlediska zdravotního přínosu je vláknina důležitou složkou potravy. V rámci studie byl sledován obsah celkové vlákniny (TDF), rozpustné (SDF) a nerozpustné složky (IDF). Poměr IDF a SDF indikuje výživovou kvalitu vlákniny přítomné ve vzorku - doporučení 3:1 (Reyes-Caudillo *et al.*, 2008). Tab. 2 ukazuje, že v porovnání s pšeničnou moukou byl ve všech sledovaných vzorcích nalezen vyšší obsah vlákniny. Nejlepším zdrojem celkové vlákniny byla lupina (39,4 %) s poměrem IDF:SDF 3,8:1. Práce Písaříková a Zralý (2010) ukazuje, že obsah vlákniny v lupině kolísá, zejména vlivem podmínek pěstování. Za bohatý zdroj vlákniny lze označit vzorky chia (30,2 a 30,6 %), pro které byl zjištěn téměř optimální poměr IDF:SDF (2,6:1). Výsledky odpovídají publikovaným datům Mohd Ali *et al.* (2012). Amarant, quinoa, konopí a rosička obsahovaly spíše průměrné množství TDF (16,8; 15,4; 12,1 a 7,5 %) v daném souboru. Pro tyto vzorky uvádí odborná literatura jak vyšší tak i nižší zjištěné hodnoty (Callaway, 2004; Dimic *et al.*, 2009; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010) v závislosti na původu vzorků.

Statistické hodnocení

Výsledky korelační analýzy mezi sledovanými složkami netradičních plodin jsou shrnuty v Tab. 3. Vysoká míra závislosti byla zjištěna pro obsah bílkovin a popela. Obdobná silná kladná korelace byla pozorována mezi jednotlivými druhy vláknin sledovaného souboru. Naopak záporný vztah byl zjištěn v případě obsahu bílkovin a rezistentního škrobu. Výsledky korelační analýzy odpovídají chemickým vlastnostem jednotlivých složek a jejich lokálnímu umístění v různých vrstvách semena netradičních plodin.

Tab. 3 Korelační analýza

	Bílkoviny					
	Popel (%)	(%)	RS (%)	IDF (%)	SDF (%)	TDF (%)
Popel (%)	1					
Bílkoviny (%)	0,720**	1				
RS (%)		-0,535*	1			
IDF (%)				1		
SDF (%)				0,880**	1	
TDF (%)				0,984**	0,844**	1

kritické korelační koeficienty: $n=12$, $r_{kr} 0,01= 0,661^{**}$, $r_{kr} 0,05= 0,532^*$

Závěr

Výsledky dílčího výzkumu prokázaly, že sledované netradiční plodiny lze doporučit pro fortifikace pšeničné mouky z hlediska zvýšení nutričního přínosu pro výrobu pekařských výrobků. Lupina a chia byly vyhodnoceny jako velmi dobré zdroje vlákniny a s poměrem IDF:SDF, který se blížil doporučenému optimu. Množství minerálních látek v pšeničné mouce lze výrazně zvýšit přidávkou konopné mouky. Téměř všechny sledované plodiny prokázaly vysokou výživovou hodnotu v případě množství bílkovin, který byl zvláště vysoký pro vzorky lupiny a konopí. Studie se zabývala chemickým složením alternativních plodin s cílem následně sledovat jejich užití ve formě kompozitních směsí s pšeničnou moukou a hodnotit vliv na technologické vlastnosti těsta a pečiva.

References

- ALVAREZ-JUBETE L. – ARENDT E.K. – GALLAGHER E.: Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 2010: 106–113.
- CALLAWAY J.C.: Hempseed as a nutritional resource: An overview. *Euphytica*, 140, 2004: 65–72.
- DIMIC E. – ROMANIC R. – VUJASINOVIC V.: Essential fatty acids, nutritive value and oxidative stability of cold pressed hempseed (*Cannabis sativa* L.) oil from different varieties. *Acta Alimentaria*, 38(2), 2009: 229–236.
- ESCUADERO N.L. – DE ARELLANO M.L. – LUCO J.M. – GIMÉNEZ M.S. – MUCCIARELLI S.I.: Comparison of the chemical composition and nutritional value of *Amaranthus cruentus* flour and its protein concentrate. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59, 2004: 15–21.
- HAGER A.S. – WOLTER A. – JACOB F. – ZANNINI E. – ARENDT E.K.: Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. *Journal of Cereal Science*, 56, 2012: 239–247.
- JANCUROVÁ M. – MINAROVIČOVÁ L. – DANDÁR D.: Quinoa – a review. *Czech Journal of Food Sciences*, 27, 2009: 71–79.
- MOHD ALI N. – YEAP S.K. – HO W.Y. – BEH B.K. – TAN S.W. – TAN S.G.: The promising future of Chia, *Salvia hispanica* L. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, 2012: 9 pages.
- PÍSAŘÍKOVÁ B. – ZRALÝ Z.: Dietary fibre content in lupine (*Lupinus albus* L.) and soya (*Glycine max* L.) seeds. *Acta Veterinaria Brno*, 79, 2010: 211–216.
- REYES-CAUDILLO E. – TECANTE A. – VALDIVIA-LOPEZ M.A.: Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Food Chemistry*, 107, 2008: 656–663.

Práce byla vypracována v rámci projektu QI111B053.

P 2**HODNOCENÍ REOLOGICKÝCH VLASTNOSTÍ KOMPOZITNÍCH MOUK
Z NETRADIČNÍCH GENOTYPŮ PŠENICE A JEČMENE**

Jirsa O.¹, Vaculová K.¹, Martinek P.¹, Stehno Z.², Laknerová I.³

¹ Agrotest fyto, s.r.o., Kroměříž;

² Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha;

³ Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.

ABSTRAKT

Cílem práce bylo posoudit farinografické chování a pekařskou kvalitu kompozitních mouk se zvýšenou nutriční hodnotou oproti běžné mouce. Zvýšení nutriční hodnoty konečného pekařského výrobku se odvíjelo od množství, složení a druhu mlýnské frakce přidávaných netradičních obilovin. Pro základ směsí byla použita komerční hladká mouka a mouka nebo krupice pšenice Citrus (žlutý endosperm), pro obohacení šrot pšenice seté (Citrus, Skorpion), pšenice špaldy (Tapioszele, Rudico) a bezpluchého jarního ječmene (AF Lucius, KM 1057). Srovnání farinografických charakteristik směsí proti standardní hladké mouce ukázalo zpravidla delší dobu vývinu a stabilitu těsta. Žádná ze směsí nevykazovala nadměrnou lepivost těsta. Některé směsi, zejména kombinace krupice Citrus, šrot Tapioszele a šrot KM1057, vedly k výrobkům s poměrně hutnou strukturou střídý. Naopak kombinace mouky Citrus a šrotu Tapioszele (60:40) měla z hodnocených směsí nejřidší střídu.

P 3**FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ ZMĚNY CITRUSOVÉHO AROMA NEALKOHOLICKÝCH NÁPOJŮ**Duchová I.¹, Grégrová A.¹, Čížková H.¹, Voldřich M.¹¹⁾ Ústav konzervace potravin, VŠCHT v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6**Úvod**

Roční spotřeba nealkoholických nápojů v České republice je přibližně 290 litrů na osobu. Při takto velké spotřebě jsou nealkoholické nápoje často reklamovány konzumenty z důvodu senzorického defektu, především pro nestandardní vůni, chuť či pro přítomnost zákalu. Identifikace příčiny senzorického defektu je často problematická, defekt může být způsoben mikrobiální kontaminací nápoje a/nebo kontaminující chemickou látkou původem z okolního prostředí (např. obalový materiál, výrobní zařízení, sanitační proces aj.), případně může senzorický defekt vzniknout při skladování nápoje samovolně v důsledku degradace látek v něm obsažených (např. oxidace aroma, neenzymatické hnědnutí apod.). Rychlou metodou pro detekci senzorických změn v nápoji je SPME/GC/MS analýza doplněná o senzorické hodnocení nápoje.

Přes 200 látek bylo identifikováno u citrusového aroma. Nejpočetnější skupinou těkavých látek jsou terpeny C₁₀, dále sesquiterpeny C₁₅, alifatické alkoholy, estery, aldehydy, ketony, kyseliny a heterocyklické sloučeniny dusíku a síry. Stabilita jednotlivých látek je dána jejich strukturou, např. acyklické terpeny jsou relativně nestabilní v porovnání s cyklickými terpeny. Jak uvádí literatura, na stabilitu aroma a případný vznik nežádoucího zápachu či zápachu v nápoji má kromě světla a teploty významný vliv i přítomnost antioxidantů a kyslíku.

Pro predikci trvanlivosti a stability se používají zrychlené skladovací testy, které jsou navrženy tak, aby simulovaly změny v průběhu skladování výrobku během krátkého časového intervalu. Při skladovacích testech se využívají klimatické komory, kde lze namodelovat teplotní a světelné podmínky tak, aby např. jeden den v klimatické komoře se rovnal jednomu měsíci skladování za běžných podmínek. Úskalím interpretace skladovacích testů však může být převedení získaných dat na reálné podmínky, neboť rychlost některých reakcí se liší při různých teplotách.

Cílem práce je na reálných a modelových nápojích zhodnotit změny citrusového aroma vlivem oxidace.

Materiál a metody*Materiál*

Vzorek nealkoholického nápoje s příchutí citrónu reklamovaný kvůli nestandardní vůni spotřebitelem. Kontrolní vzorek stejného nápoje (standardní vůně) a vzorky nápoje podrobené skladovacímu testu (3 dny v klimatické komoře: světlo 3800–4500 lux, teplota 38 °C, tj. 1 den = 1 měsíc).

Modelový nápoj – aroma a sycená pramenitá voda použité k výrobě originálního nápoje. Polovina modelových vzorků byla 5 minut intenzivně třepána, tím se docílilo přibližně 6krát vyšší koncentrace rozpuštěného kyslíku v nápoji oproti kontrolním vzorkům (bez fortifikace O₂). Část vzorků byla analyzována ihned, část byla ponechána při pokojové teplotě 24 hodin a až poté analyzována na profil těkavých látek.

SPME/GC/MS analýza pro stanovení profilu těkavých látek

Instrument: plynový chromatograf (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, 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; mobilní fáze: helium, konstantní průtok 1,4 ml.min⁻¹.

Servisní rozbor

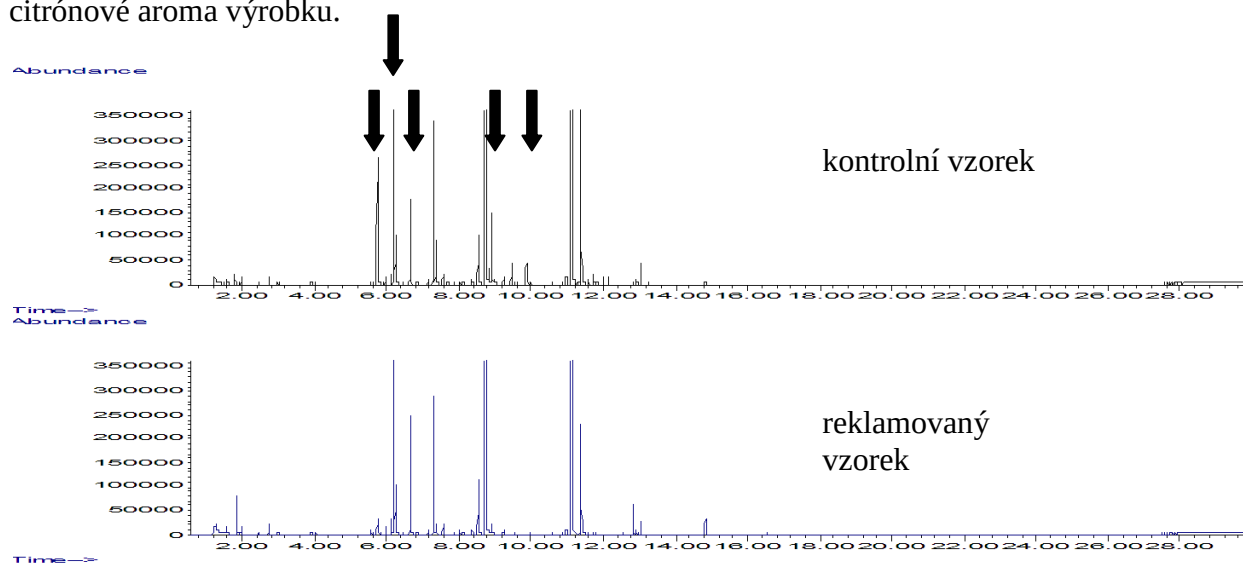
Senzorická analýza: trojúhelníková zkouška – určení rozdílu od standardu, tj. kontrolního vzorku. Měření obsahu rozpuštěného kyslíku: Oximetr, WTW.

Mikrobiologický rozbor: Celkový počet živých mikroorganismů (PCA agar), koliformní bakterie (VČŽL agar) a kvasinky a plísně (GKCh agar) se stanovily metodou membránové filtrace (průměr pórů 0,45 μm , filtrováno 0,5 l vzorku).

Výsledky a diskuse

Od českého výrobce nealkoholických nápojů jsme obdrželi vzorek nápoje s citrónovou příchutí reklamovaný pro netypickou vůni a chuť spotřebitelem. Tento reklamovaný vzorek jsme porovnávali se stejným výrobkem jiné šarže, který měl typickou chuť i vůni. Rozdíl v senzorických vlastnostech byl významný, reklamovaný vzorek byl hodnotiteli popsán jako méně sladký s grapefruitovou chutí a více hořký než kontrolní vzorek. Výsledky mikrobiologických rozborů byly negativní, nebyla zjištěna přítomnost kazící mikroflóry u reklamovaného vzorku.

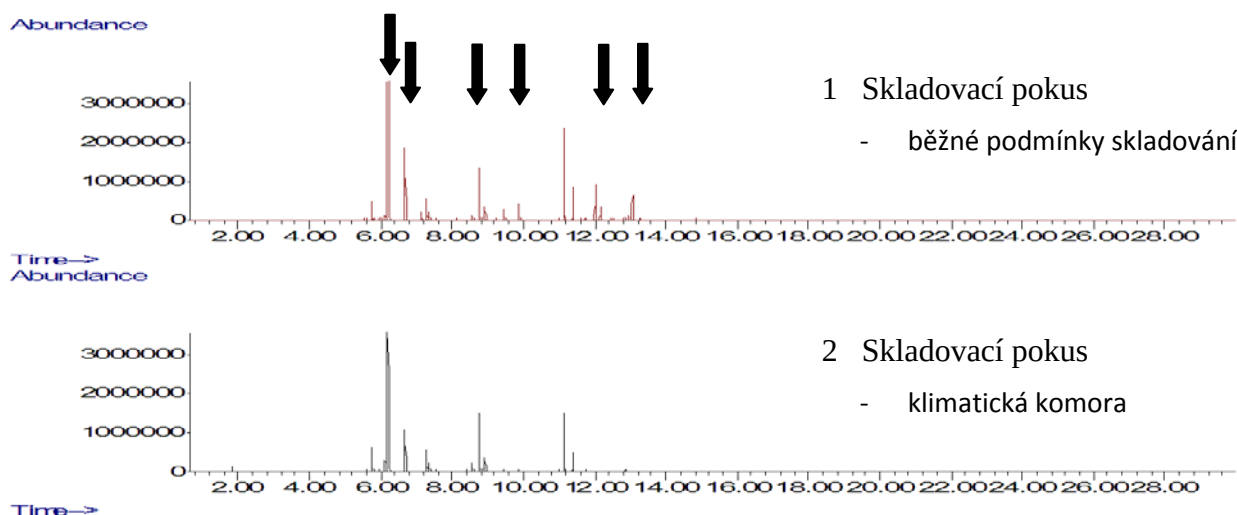
U obou vzorků jsme provedli SPME/GC/MS analýzu pro stanovení profilu těkavých látek. Profil těkavých látek u reklamovaného vzorku byl podobný jako u vzorku kontrolního (viz Obr. 1). Reklamovaný vzorek však obsahoval méně aldehydů (oktanal, nonanal, dekanal) a terpenů (2-karen, citral, karyophyllen, alfa-bergamoten) (viz Tab. 1). Neidentifikovali jsme však žádnou konkrétní látku, která by byla zodpovědná za nežádoucí chuť a vůni výrobku. Proto jsme jako příčinu změněné senzorické kvality nápoje vyloučili kontaminaci nápoje (mikrobiologickou i chemickou) a zaměřili se na změny aroma vzniklé při samovolné degradaci látek zodpovědných za citrónové aroma výrobku.



Obr. 1: Profily těkavých látek kontrolního a reklamovaného vzorku nápoje

Šipkami jsou zvýrazněny nejvýznamnější rozdíly mezi vzorky: oktanal ($RT=5,77$ min), *D*-limonen ($RT=6,21$ min), *gama*-terpinen ($RT=6,69$ min), *alfa*-terpineol ($RT=8,75$ min), citral ($RT=9,88$ min).

Do klimatické komory nastavené tak, že jeden den odpovídá reálnému skladování vzorku jeden měsíc, jsme umístili vzorky kontrolního nápoje pro urychlení průběhu změn v profilu těkavých látek během skladování. Po třech dnech jsme vzorky analyzovali a porovnali se vzorky skladovanými za běžných podmínek. Vzorky z klimatické komory měly rozdílný profil těkavých látek oproti kontrolním vzorkům. U některých látek došlo k poklesu (*D*-limonen, *gama*-terpinen, citral), u jiných k jejich vzestupu (cymen, 3-karen, *alfa*-terpineol) a stejně jako u reklamovaného vzorku došlo ke snížení obsahu některých aldehydů a terpenů (viz Obr. 2 a Tab. 1).



Obr. 2: Profil těkavých látek vzorků ze skladovacího pokusu

Šípkami jsou zvýrazněny nejvýznamnější rozdíly mezi vzorky: D-limonen (RT=6,21 min), gama-terpinen (RT=6,69 min), alfa-terpineol (RT=8,75 min), citral (RT=9,88 min), alfa-bergamoten (RT=12,51 min), beta-bisabolen (RT=13,06 min).

Tab. 1: Relativní zastoupení (%) vybraných těkavých látek analyzovaných vzorků

RT	látká			Skladovací pokus		Ověření hypotézy oxidace aroma		
		kontrola	reklamace	1	2	3	4	5
5.771	oktanal	4,1	1,0	2,5	5,5	3,7	3,7	4,2
6.149	cymen	0,7	0,7	0,6	2,1	1,3	1,5	1,5
6.212	D-limonen	36,0	28,6	44,0	41,2	42,1	41,6	29,4
6.263	eukalyptol	1,6	2,8	0,8	1,8	0,9	0,9	0,9
6.692	gama-terpinen	6,7	4,2	9,0	8,2	8,1	8,2	6,8
7.173	terpinolen	1,0	0,0	1,0	0,0	0,5	0,5	0,6
7.310	3-karen	4,6	6,8	2,7	4,4	1,9	1,9	2,3
7.385	nonanal	1,4	0,6	0,9	1,7	1,4	1,4	1,6
8.563	terpinen-4-ol	2,1	3,0	1,0	2,0	1,0	1,1	1,3
8.752	alfa-terpineol	11,9	27,8	6,7	14,3	4,5	4,8	5,7
8.855	2-karen	0,5	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,2
8.924	dekanal	2,1	0,5	1,7	2,5	2,6	2,6	3,2
9.467	karveol	1,4	0,0	1,5	0,0	2,1	2,1	2,6
9.879	citral	2,0	0,0	2,3	0,0	2,8	2,9	3,4
11.144	beta-pinen	12,3	18,1	11,5	10,5	11,6	10,2	12,1
11.396	beta-myrcen	3,8	5,4	4,1	3,3	3,9	3,6	4,1
12.014	karyophyllen	1,1	0,0	4,4	0,0	5,6	5,7	8,9
12.151	alfa-bergamoten	0,8	0,0	1,7	0,0	2,2	3,1	4,4
13.055	beta-bisabolen	2,5	0,5	3,2	0,0	3,9	4,2	7,0
Senzorické hodnocení								

Skladovací pokus: (1) běžné podmínky skladování; (2) klimatická komora.

Ověření hypotézy oxidace aroma: (3) 0 h, bez fortifikace O₂; (4) 24 h, bez fortifikace O₂; (5) 24 h, 5 min třepání pro zvýšení obsahu rozpuštěného kyslíku.

Senzorické hodnocení: zelená = není rozdíl od standardu; oranžová = rozdíl od standardu na hladině pravděpodobnosti 95 %, červená = rozdíl od standardu na hladině pravděpodobnosti 99 %.

Tyto výsledky korespondují s literárními údaji pro vliv světla a zvýšené teploty na látky citrónového aroma. Podle Rouseff a Naim (2000) dochází při vystavení citrusového aroma vyšší expozici světla ke snížení koncentrace citralu, látky zodpovědné za svěží citrusovou vůni, a zvýšení koncentrace p-cymenu, který je popisovaný jako terpenický, žluklý s dřevitými tóny či jako přípach

po rozpouštědle. Zároveň se katalytickou dehydrogenací v přítomnosti světla D-limonen a gama-terpinen přeměňují na p-cymen. D-limonen může dále degradovat na alfa-terpineol (zatuchlá, plesnivá vůně, terpenická, dřevitá, květinová), ten dále na trans-/cis-1,8-terpin a další látky.

Z naměřených výsledků lze usuzovat, že změny v profilu těkavých látek jsou způsobené vlivem oxidace aroma. Na rychlost průběhu oxidačních změn aroma má vliv množství rozpuštěného kyslíku v hotovém nápoji. Pro ověření této hypotézy jsme připravili modelové vzorky připravené z citrónového aroma a sycené pramenité vody, které byly použity k výrobě originálního nápoje. Polovina modelových vzorků byla 5 minut intenzivně třepána, tím se docílilo vyšší koncentrace rozpuštěného kyslíku v nápoji oproti kontrolním vzorkům ($4,45 \text{ mg.l}^{-1}$ oproti $0,68 \text{ mg.l}^{-1}$). Po 24 hodinách došlo vlivem difúze kyslíku přítomného nad hladinou ke zvýšení koncentrace rozpuštěného kyslíku z $0,68 \text{ mg.l}^{-1}$ na $6,10 \text{ mg.l}^{-1}$ u netřepaných vzorků, resp. ze $4,45 \text{ mg.l}^{-1}$ na $7,36 \text{ mg.l}^{-1}$ u intenzivně třepaných vzorků.

U modelových vzorků došlo k podobné změně v profilu těkavých látek jako u reklamovaného vzorku a u vzorku ze skladovacího pokusu. Změny byly výraznější u intenzivně třepaného vzorku (vzorek č. 5), kde oxidační procesy probíhaly intenzivněji. U tohoto vzorku došlo k významnému snížení gama-terpinenu a k výraznému zvýšení obsahu p-cymenu. Toto se shoduje s dostupnými literárními údaji pro vliv rozpuštěného kyslíku na změny aroma a potvrzuje naši hypotézu vlivu oxidace na změny v profilu těkavých látek aroma a následné změny smyslových vlastností.

Poděkování

Projekt byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum MŠMT č. 20/2013.

Použitá literatura

- Haleva-Toledo E., Naim M., Zehavi U. and Rouseff R.L.: Formation of α -terpineol in citrus juices, model and buffer solutions. *Journal of Food Science*. 1999, Vol. 64, No. 5, p. 838–841.
- Nagy S., Rouseff R.L. and Lee H.S.: *Thermally degraded flavors in citrus juice products*. In: Thermal Generation of Aromas; Parliment T. et al.; ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, 1989, p. 331–345.
- Perez-Cacho P.R. and Rouseff R.: Processing and Storage effects on orange juice aroma: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008, Vol. 56, No. 21, p. 9785–9796.
- Rouseff R. and Naim M.: *Citrus flavor stability*. In: Flavor Chemistry; Risch S. et al.; ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, 2000, p. 101–121.

P 4**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 v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6**Úvod**

Nesycené sladké nápoje jsou vhodným prostředím pro růst bakterií, některé bakterie mají schopnost adheze a na povrchu výrobního zařízení vytváří biofilm. Biofilm lze definovat jako shluky či mikrokolonie mikroorganismů pevně spojených s povrchem. Tato seskupení mikroorganismů jsou obalena vrstvou extracelulární polymerní substance, jež je chrání před vnějšími podmínkami. Bakterie, které jsou součástí biofilmu, lépe odolávají účinkům sanitačních roztoků a vyšším koncentracím biocidních látek, než volné bakteriální buňky. Biofilm se nejčastěji tvoří na tzv. mrtvých místech výrobního zařízení (ventily, kohouty, těsnění, zaslepené trubky, zkorodované povrchy) v prostředí bohatém na živiny. Nárůst biofilmu může trvat i několik měsíců a poté se z něj uvolňují jednotlivé buňky do produktů. Defekt se projevuje kontaminací různého počtu lahví z výrobní partie, od jednotlivých kusů po celou výrobu.

Významným rodem bakterií způsobujících kontaminaci nápojů je *Asaia* sp. Jedná se o gramnegativní fermentující bakterie patřící do skupiny bakterií octového kvašení, které jsou schopny přežít při pH <3, což odpovídá pH nealkoholických nápojů. 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).

Tato práce zkoumá možnosti využití ultrazvuku v kombinaci s dezinfekčními látkami v boji s již vytvořeným biofilmem na povrchu výrobního zařízení.

Materiál a metody*Příprava biofilmu v laboratorních podmínkách*

- Testovány 2 kmeny bakterií – *Asaia* sp. a *Asaia lannaensis*
- Sterilní nerezové destičky (4 cm x 4 cm) umístěny na Petriho miskách
- Zality Sabouraud bujónem s bakteriální kulturou
- Kultivace v termostatu při 25 °C, 7–10 dní
- Po kultivaci odebrána zbytková kapalina a vysušení biofilmu při 25 °C, 2 dny

Testované sanitační prostředky

- TwinOxide (0,3% roztok oxidu chlornatého)
- Divostar 2% louh (silně alkalický s obsahem sekvestračních přísad)
- Divosan Forte (kyselý na bázi kyseliny peroctové)
- Acid Plus (silně kyselý na bázi kyseliny dusičné a fosforečné)
- Savo Originál (na bázi chlornanu sodného a hydroxidu sodného)
- Fyzikální metody – ultrazvuk a UV záření
- Kombinace rozrušení biofilmu ultrazvukem po dobu 1 minuty a aplikace sanitačního prostředku

Postup testování sanitačních prostředků

- Připravený biofilm opláchnut 10 ml sterilního fyziologického roztoku
- Aplikace 10 ml sanitačního prostředku a po dané době působení (1, 3, 5, 7, 10, 15 min – vždy podle specifikace daného sanitačního činidla) testovaná látka slita
- Neutralizace destičky s biofilmem – oplach 10 ml sterilního fyziologického roztoku
- Biofilm pomocí sterilní kličky rozrušen v 10 ml fyziologického roztoku (1. ředění), požadované ředění bylo pipetováno na Petriho misky, zalito Sabouraud agarem a kultivováno při 25 °C 2–3 dny
- Při kombinovaném použití ultrazvuku a sanitačního prostředku – aplikace 1 minuty ultrazvuku při prvním oplachu biofilmu

- Kontrola – destička s biofilmem opláchnutá sterilním fyziologickým roztokem bez použití sanitačního činidla
- Všechny testy byly provedeny třikrát, pro vyhodnocení byl použit průměr, směrodatná odchylka a t-test

Výsledky a diskuse

Testování účinnosti sanitačních postupů u obou použitých kmenů bakterií rodu *Asaia* – *Asaia* sp. a *Asaia lannaensis* měly podobné výsledky, podrobněji zde proto uvádíme jen výsledky pro druh *Asaia lannaensis*.

Po použití **TwinOxidu** v kombinaci s ultrazvukem u kmene *Asaia lannaensis* došlo k poklesu KTJ.cm^{-2} a v 1 min aplikace chemického prostředku o 90 % ($p > 0,05$), ve 3 min již o 99,8 % ($p < 0,01$). Při použití samotného TwinOxide došlo ke snížení počtu životaschopných mikroorganismů v 1 min o 86 % při porovnání s kontrolou ($p < 0,05$), ve 3 min o 95 % ($p < 0,05$).

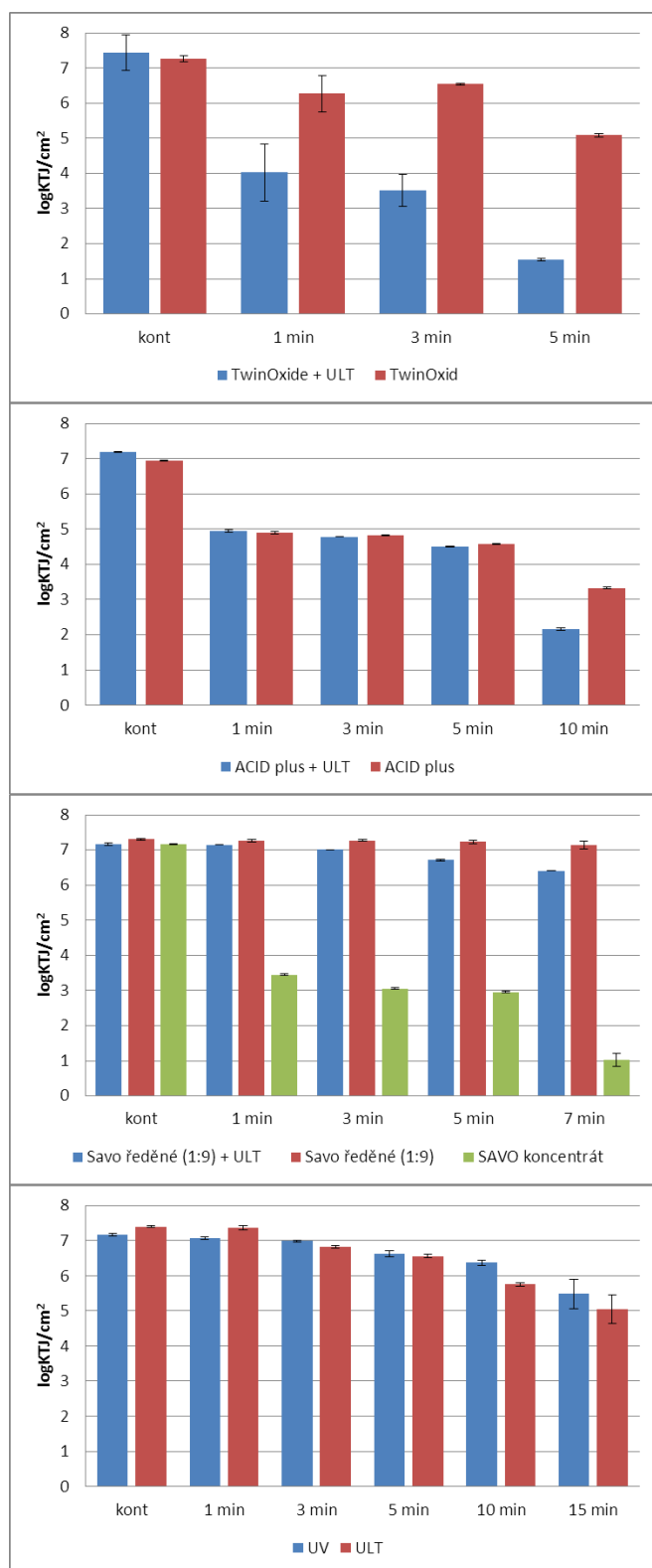
Při použití **Acid Plus** kombinovaného s ultrazvukem byl zjištěn úbytek KTJ.cm^{-2} v 1 min o 99 % ($p < 0,01$), ve 3 min o 99,6 % ($p < 0,05$) a 5 min o 99,8 % ($p < 0,05$). Naproti tomu při využití samotného Acid Plus byl zaznamenán pokles bakterií vzhledem ke kontrole v 1 a 3 min o 99,1 % resp. 99,2 % ($p < 0,01$). V 5 a 10 min působení Acid Plus nedošlo k dalšímu snížení počtu KTJ.cm^{-2} destičky oproti aplikaci po 3 min.

Po 1 min aplikace sanitačního prostředku **Divostar 2% louh** v kombinaci s ultrazvukem byla sanitace dostatečně účinná. Došlo k významnému poklesu životaschopných bakterií, a to o 99,96 % ($p < 0,01$), ve 3 min dokonce o 99,99 % ($p < 0,01$). Při prosté chemické sanitaci Divostarem došlo v 1 min aplikace k poklesu KTJ.cm^{-2} destičky o 81 %, ve 3 min o 84 % a v 5 min o 99 %, všechny úbytky jsou statisticky významné v porovnání s kontrolou na hladině pravděpodobnosti 99 % ($p < 0,01$).

Při použití **Divosanu Forte** již po první minutě aplikace u kmene *Asaia lannaensis* byl úbytek KTJ.cm^{-2} 99,9 % ($p < 0,01$) oproti kontrole. Další aplikace Divosan Forte nejsou považovány za nutné a není nutné použít kombinaci s ultrazvukem.

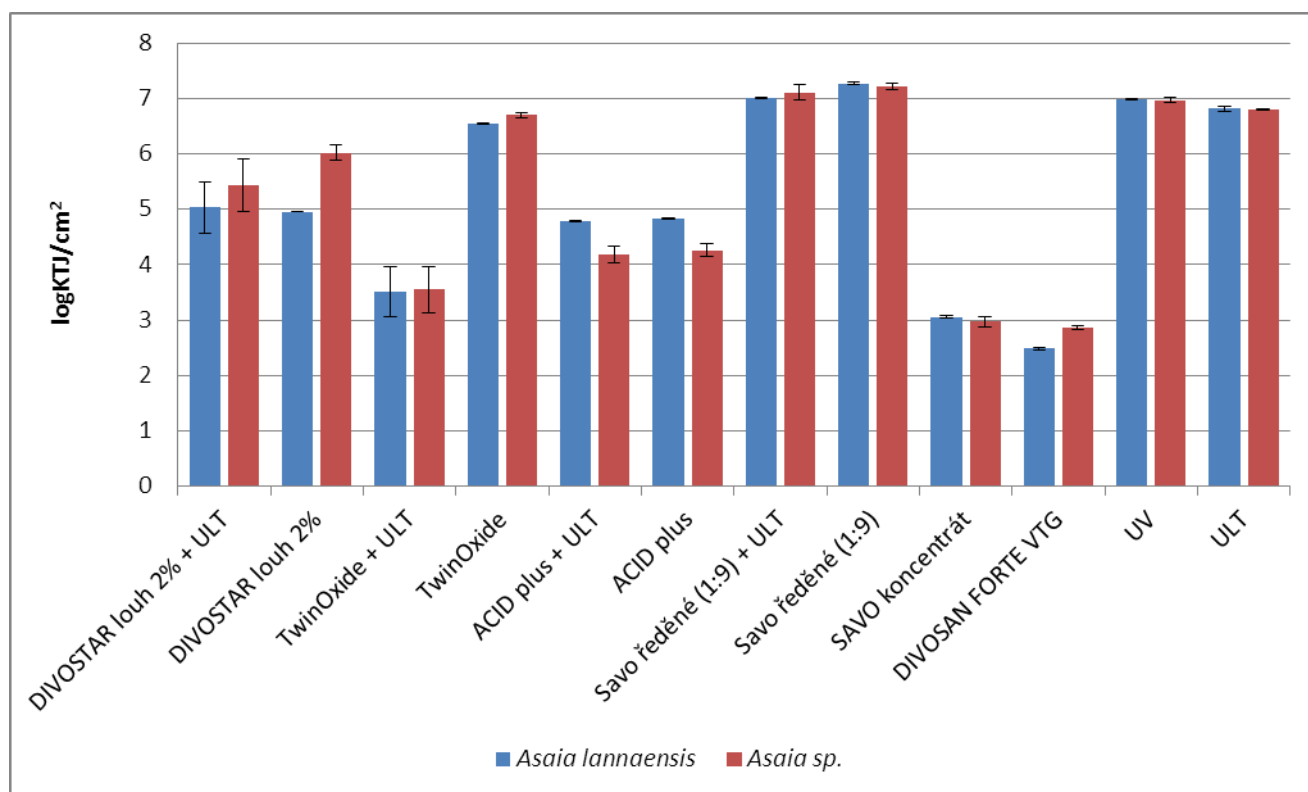
V porovnání s kontrolou došlo k významnému poklesu bakterií ve všech časových intervalech aplikace **koncentrovaného Sava Originál** ($p < 0,01$). Již po 1 min aplikace činil pokles 99,99 % KTJ.cm^{-2} a mezi dalšími časovými intervaly (3, 5 a 7 min) nebyl staticky významný rozdíl ($p > 0,05$). Při použití **ředěného Sava Originál** (1:9) nedošlo k významnému poklesu bakterií, po 7 min expozice bylo na destičce ještě 16 % KTJ.cm^{-2} při použití kombinace s ultrazvukem, resp. 71 % bez použití ultrazvuku.

Fyzikální metody sanitace, **sanitace UV zářením a sanitace pomocí ultrazvuku**, byly méně účinné, než sanitace pomocí chemických prostředků. Procentuální pokles KTJ.cm^{-2} byl významnější až v 15 min působení, kdy došlo k poklesu KTJ.cm^{-2} destičky o 2 řády ($p < 0,05$). Na destičce přesto bylo 10^5 životaschopných buněk oproti 10^3 po použití chemických činidel po 5 min působení. Fyzikální metody sanitace jsou účinné na vytvořený biofilm až v delším časovém intervalu, což je z hlediska použitelnosti v průmyslu nevhodné.



Obr. 1: Účinnost vybraných sanitačních postupů na biofilm tvořený kulturou *Asaia lannaensis*

Chemické prostředky: s ultrazvukem (+ ULT) a bez ultrazvuku; fyzikální metody sanitace: UV a ULT (UV záření a ultrazvuk).



Obr. 1: Porovnání sanitačních prostředků ve 3. minutě působení u obou testovaných kmenů – *Asaia* sp. a *Asaia lannaensis*

Pro porovnání účinnosti jednotlivých sanitačních postupů a dvou testovaných kmenů mezi sebou byl sestaven výše uvedený graf účinku ve 3. minutě působení (viz Obr. 2). Nejúčinnější sanitační prostředek byl Divosan Forte, a to u obou testovaných kmenů. Jeho použití bez kombinace s ultrazvukem mělo větší účinnost než použití ostatních testovaných sanitačních prostředků použitých v kombinaci s ultrazvukem. Nejméně účinné se ukázaly být fyzikální metody sanitace – UV záření a ultrazvuk, a z chemických prostředků – ředěné Savo Originál (1:9) a to jak s ultrazvukem tak bez jeho použití.

Závěr

Nakultivovaný biofilm byl vystaven působení jednotlivých sanitačních činidel v daných časových intervalech. Množství životaschopných buněk bylo přepočítáno na plochu nerezové destičky a vyhodnoceno statistickými metodami. Byly porovnávány i účinky jednotlivých sanitačních metod u obou použitých kmenů rodu *Asaia*. Nejúčinnějším sanitačním činidlem byl pomocí statistické analýzy stanoven Divosan Forte, a to u obou testovaných kmenů bakterií (*Asaia lannaensis*, *Asaia* sp.). Srovnatelný účinek vykazoval i běžně prodejný prostředek k sanitaci – koncentrované Savo Originál. Fyzikální metody sanitace – ultrazvuk a UV záření byly méně účinné než použité chemické prostředky, citlivější k UV záření a ultrazvuku byl biofilm tvořený kulturou *Asaia lannaensis*.

Kombinovaný způsob sanitace byl nejúčinnější, protože díky použití ultrazvukové lázně, byla struktura biofilmu rozrušena a buňky bakterií byly lépe přístupné k následující chemické sanitaci. V kombinaci s ultrazvukem byl nejúčinnější přípravek TwinOxide a Acid Plus a to především u kmenu *Asaia lannaensis*. Důvodem toho může být námi prokázaná vyšší citlivost při aplikaci samotného ultrazvuku. Naproti tomu u přípravku Divostar se ukázalo jeho použití v kombinaci ultrazvukem být zbytečné, jelikož není mezi sanitací s a bez ultrazvuku významný statistický rozdíl ($p > 0,05$).

Poděkování

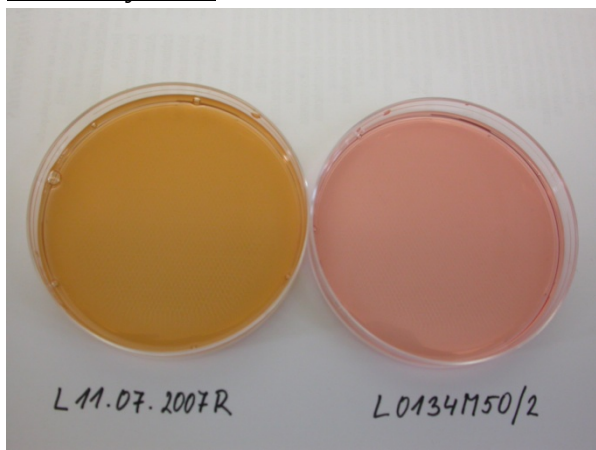
Projekt byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum MŠMT č. 20/2013.

Použitá literatura

- Moore J.E., McCalmont M., Xu J., Millar B.C., Heaney N., 2002: *Asaia* sp. as unusual spoilage organism of fruit-flavoured bottled water. *Applied and Environmental Microbiology*, vyd. 68, s. 4130–4131.
- Pina M. Fratamico, Bassam A Annous, Nereus W Gunther IV, 2009: *Biofilm in the food and beverage industries*. Boca Raton : CRC Press, 1. vyd., s. 580. ISBN 978-1-84569-477-7.
- Kneiflová J., 1985: Standardní metody pro hodnocení dezinfekční účinnosti chemických látek. AHEM, příloha č. 1, 1985, s. 1–25.

P 5**SEDIMENTY A ZÁKALY V ALKOHOLICKÝCH NÁPOJÍCH**Horsáková I.¹, Reitschmied T.¹, Voldřich M.¹, Čížková H.¹¹⁾ Ústav konzervace potravin, VŠCHT v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6

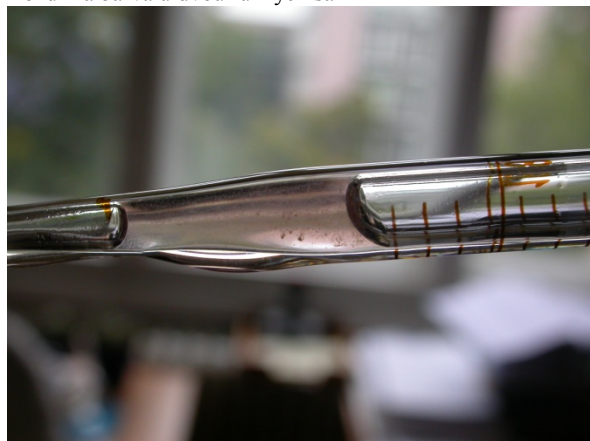
V alkoholických nápojích se mohou vyskytnout různé senzorické změny, jako jsou např. ztráta jiskry, plovoucí částice, sedimenty a zákaly, a také změna barvy. Některé problémy jsou způsobeny použitím nevhodné, nebo nedostatečně upravené suroviny a některé mohou zase být způsobeny nevhodnou technologií. Např. problémy mohou způsobovat ovocné složky, které obsahují třísloviny, jako jsou polyfenoly nebo zbytky pektinu. Jemné zákaly a ztráta jiskry mohou být zapříčiněny použitím nekvalitního cukru. Například plovoucí chuchvalce byly způsobeny nevhodnou technologií, kdy byly použity nekvalitní filtry a z těchto filtrů se do nápoje uvolňovaly částičky celulózy. Tento poster se zabývá přehledem a vysvětlením jednotlivých zjištěných defektů v alkoholických nápojích.

Švestkový likér:

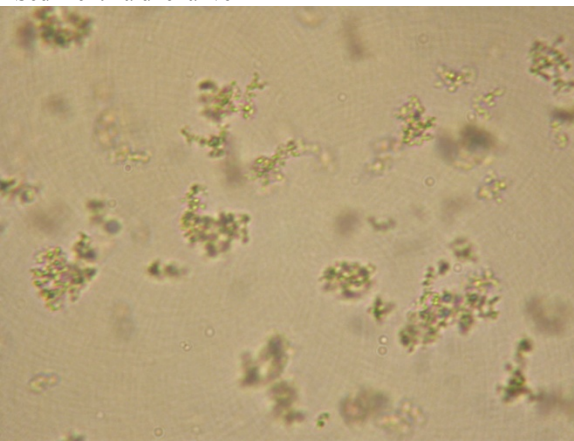
Rozdílná barva u dvou různých šarží



Sediment na dně lahve



Sediment v pipetě

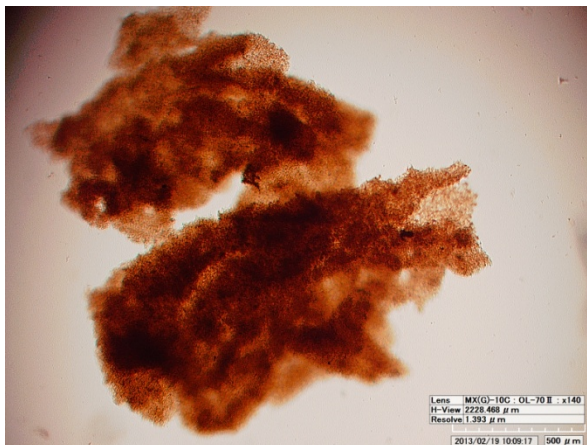


Sediment v mikroskopickém preparátu (zvětšení 400x)

V tomto případě se jednalo o likér s příchutí švestky, který obsahoval švestkový koncentrát. Defektní finální výrobky se od standardních odlišovaly především podílem ovocné složky, což značí použití švestkového koncentráту o jiném složení. Koncentrát použitý do defektních vzorků měl složení odlišné od ostatních, pro vznik sedimentu byl především významný vysoký obsah polyfenolů, což jsou časté iniciátory vzniku dodatečných zákalů a defektů u ovocných šťáv nebo vína. Defektní vzorky se tedy projevovaly zákalem a sedimentem na dně lahve a v některých případech i rozdílnou barvou likéru.

Brusinkový likér:

Sediment na dně lahve



Mikroskopický preparát sedimentu (zvětšení 140x)

V brusinkovém likéru s obsahem brusinkové šťávy se objevila velmi hustá sraženina na dně lahve. Sraženina se v mikroskopickém preparátu jevila jako velmi jemná amorfní hmota. Je pravděpodobné, že pocházela z brusinkového koncentrátu. Rozbor pomocí infračervené mikrospektroskopie zjistil, že sediment je na bázi polysacharidu a pravděpodobně se jedná o třísloviny. V brusinkovém koncentrátu rozpuštěném v lihu se vytvořila podobná sraženina, v mikroskopickém preparátu tato sraženina vypadá stejně jako sraženina z likéru. Příčinou defektu byl tedy přidávaný brusinkový koncentrát.

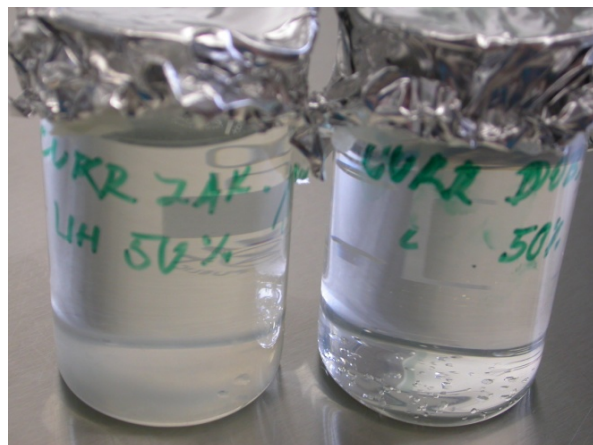
Whisky:

V případě Whisky byly zaznamenány dva defekty nezávisle na sobě, v jednom případě se jednalo o přítomnost krystalů šťavelanu vápenatého a ve druhém byly zjištěny chomáče celulózy.

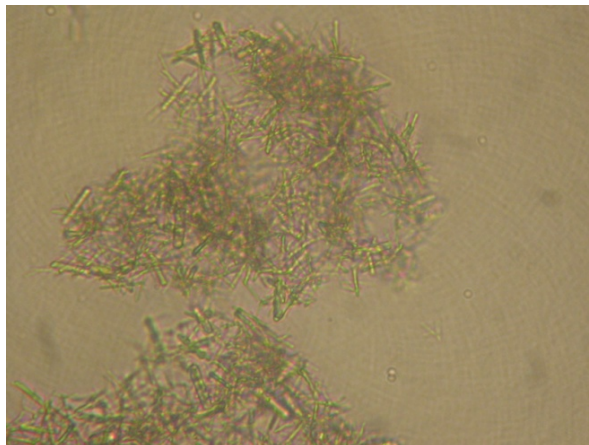
1. Sraženina byla s největší pravděpodobností šťavelan vápenatý, který byl potvrzen v obou analyzovaných defektních vzorcích. V jednom vzorku byla identifikována navíc akrylátová pryskyřice, pocházející nejpravděpodobněji z nátěrů.

Kyselina šťavelová je v nízkých koncentracích přítomná v rostlinných pletivech, například i v hroznovém vínu, mohla by být v bonifikátoru, macerátu nebo výluhu podobných pletiv. Rovněž tak vápník. Ke sražení může dojít při nějaké změně vlastností roztoku, třeba vápník je lehce navýšen vodou (i bonifikátory), případně se v čase uvolní z jiných komplexů a koncentrace iontů šťavelanu a vápníku v lihovém roztoku stoupne nad součin rozpustnosti.

2. Bylo zjištěno, že ve vzorku whisky se nacházejí drobné plovoucí částičky, které jsou obtížně izolovatelné. Pomocí infračervené spektroskopie bylo stanoveno, že složení těchto částiček má charakter celulosy. Tato celulóza pocházela z nekvalitních filtrů, přes které se alkoholický nápoj filtroval.



Sledování zákalu u roztoku cukru v lihu



Krystaly šťavelanu ve vzorku whisky

Ztráta jiskry u nápoje:

U vzorku likéru došlo v případě jedné šarže ke ztrátě jiskry. Bylo zjištěno z provedených zkoušek, že ztráta jiskry je způsobena vlastnostmi použitého cukru, s největší pravděpodobností jsou zdrojem lehké opalescence metabolity slizotvorných bakterií. Z uvedeného je zřejmé, že se jedná pouze o jakostní defekt, který nemusí být spotřebitelem detekovatelný, rovněž z krátkodobých provedených zkoušek není zřejmé, že by se charakter defektu měnil, lehká opalescence byla homogenní.

Projekt byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum MŠMT č. 20/2013.

P 6**IDENTIFIKÁCIA KVASINIEK VO VÍNE POMOCOU INFRAČERVENEJ SPEKTROSKOPIE S FOURIEROVOU TRANSFORMÁCIOU (FTIR)**

Ženišová K., Kuchta T.

Výskumný ústav potravinársky, Priemyselná 4, P.O.Box 25, 824 75 Bratislava 26

Abstrakt

Mikrobiologickú charakteristiku hroznového muštu a vína vytvára široké spektrum mikroorganizmov. Túto spontánnu mikroflóru muštu tvoria baktérie, kvasinky a vláknité huby, pričom ich množstvo a zastúpenie závisí predovšetkým od zdravotného stavu hrozna. Cieľom tejto štúdie bola identifikácia a klasifikácia kvasiniek z hrozna, muštu a vína. Vzorky kvasiniek z vinohradov a zbierkové kmene kvasiniek boli izolované na YPD médiu a identifikované pomocou infračervenej spektroskopie s Fourierovou transformáciou (Fourier Transformation Infrared Spectroscopy, FTIR). Ide o metódu analýzy štruktúry chemických látok a ich zmesí na základe identifikácie druhov chemických väzieb v molekulách. Na identifikáciu kvasiniek sa použil nástavec HTS XT na meranie veľkého počtu vzoriek a ZnSe optická platňa, ktorá umožňuje analyzovať 96 vzoriek súčasne a poskytuje rýchle údaje. Výstupom boli infračervené spektrá, ktoré boli navzájom porovnané.

Úvod

Kultivar viniča hroznorodého, spôsob jeho pestovania a terroir sú základom chute a vône vína, avšak charakteristickú chuť a vôňu jednotlivých odrôd vína významne ovplyvňujú aj mikroorganizmy, obzvlášť kvasinky. Postupne sa popri kultivačných, molekulárno-biologických metódach začína využívať na identifikáciu mikroorganizmov aj infračervená spektroskopia s Fourierovou transformáciou (Fourier Transformation Infrared Spectroscopy, FTIR). Infračervené žiarenie sa delí na blízku ($12500\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$), strednú ($4000\text{--}200\text{ cm}^{-1}$) a vzdialenú infračervenú oblasť ($200\text{--}10\text{ cm}^{-1}$). Najviac sa používa stredná infračervená oblasť.

Pomocou FTIR možno analyzovať pevné, kvapalné a plynné látky a v posledných rokoch sa používa na identifikáciu a klasifikáciu mikroorganizmov. Chemické zložky bunky, ktoré sa analyzujú FTIR spektroskopiou absorbované v oblasti $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ sú mastné kyseliny, v oblasti $1800\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ sú amidové skupiny proteínov a peptidov, v oblasti $1500\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ sú proteíny a mastné kyseliny, v oblasti $1200\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ sú polysacharidy, $900\text{--}500\text{ cm}^{-1}$ „skutočná“ oblasť fingerprintu s obsahom skupín, ktoré nemôžu byť priradené k špecifickým funkčným skupinám (Oust a kol., 2004).

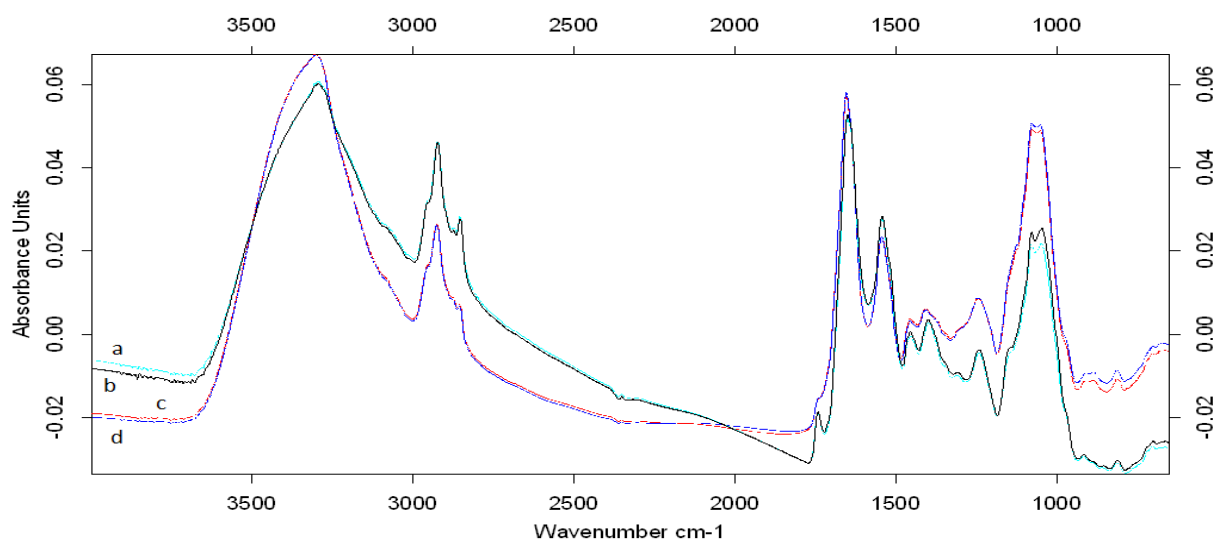
Materiál a metódy

Kmene kvasiniek použité na FT-IR analýzu sme získali z hrozna, muštu a vína z vinohradov z Malokarpatskej oblasti. Boli kultivované v YPD médiu, 3-4 dni pri $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Následne bola kolónia suspendovaná v $100\text{ }\mu\text{l}$ destilovanej vody. Alikvotná časť $35\text{ }\mu\text{l}$ bola prenesená na ZnSe optickú platňu, ktorá bola sušená pri teplote $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 45 min. Spektrá boli zmerané prístrojom Bruker HTS XT a základné korekcie, normalizácie, derivácie krivky boli vykonané pomocou Bruker 7 OPUS/LAB softvér. Meranie bolo uskutočnené pri vlnovej dĺžke $4000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$ s intervalom 1 cm^{-1} a spektrálnym rozlíšením 4 cm^{-1} . Finálne spektrum bolo 32 krát skenované. Spektrá boli navzájom porovnané a štatisticky vyhodnotené hierarchickou zhukovou analýzou (HCA) s použitím Wardovho algoritmu.

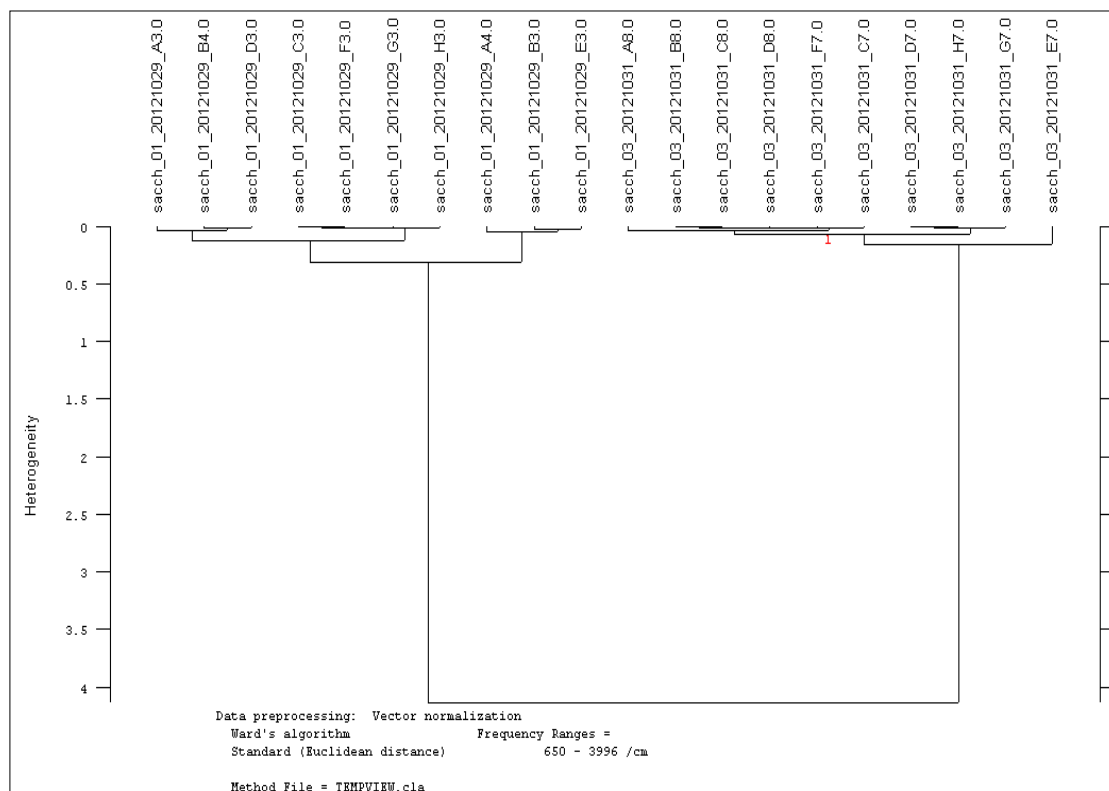
Výsledky

Zatiaľ sme porovnávali 10 druhov *Saccharomyces cerevisiae* s 10 druhmi *Hanseniaspora uvarum*. Na Obr.1 môžeme vidieť rozdiely v spektrách týchto dvoch druhoch, a to najmä v dvoch oblastiach: v oblasti $1800\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$ charakteristická pre amidové skupiny proteínov a peptidov a v oblasti $1200\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ charakteristická pre polysacharidy.

Aj štatistickým vyhodnotením hierarchickej zhlukovej analýzy (HCA) s použitím Wardovho algoritmu boli druhy *Saccharomyces cerevisiae* a *Hanseniaspora uvarum* rozdelené (obr. 2).



Obr. 1: Infračervené spektrá v oblasti 4000–650 cm⁻¹ *Saccharomyces cerevisiae* (a, b) a *Hanseniaspora uvarum* (c, d).



Obr. 2: Dendrogram výsledkov hierarchickej zhlukovej analýzy absorpčných spektier v oblasti 650–3996 cm⁻¹ *Saccharomyces cerevisiae* (sacch_01_20121029_A3.0-sacch_01_20121029_H3.0, sacch_01_20121029_A4.0, sacch_01_20121029_B4.0) a *Hanseniaspora uvarum* (sacch_01_20121031_C7.0-sacch_01_20121031_H7.0, sacch_01_20121031_A8.0- sacch_01_20121031_D8.0).

Diskusia a záver

Porovnaním infračervených spektier v oblasti 4000–650 cm⁻¹ a štatistickým vyhodnotením hierarchickou zhlukovou analýzou (HCA) s použitím Wardovho algoritmu sme identifikovali a klasifikovali kvasinky druhov *Saccharomyces cerevisiae* a *Hanseniaspora uvarum*. Porovnávaním spektier týchto druhov sme zistili rozdiely v dvoch oblastiach absorpčných spektier.

Ukázalo sa, že FTIR spektroskopia je rýchla, veľmi citlivá metóda, ktorá umožňuje jednoduchú mikrobiálnu prípravu vzoriek pri nízkych nákladoch na spotrebný materiál a dokáže analyzovať viac vzoriek súčasne.

Podakovanie

Práca bola podporená zo Štrukturálnych fondov EÚ, kód ITMS projektu 26240220013: Využitie vedeckých poznatkov pre kvalitné a zdravé potraviny.

Použitá literatúra

Oust, A. – Moretro, T. – Kirschner, C. – Narvhus, J. A., Kohler, A.: FT-IR spectroscopy for identification of closely related lactobacilli. *Journal of Microbiological Methods*, 59, 2004, 149-162.

P 7

AMINOALDEHYDDEHYDROGENASA 1 Z RAJČETE A JEJÍ MOŽNÉ VYUŽITÍ K DETEKCI ALDEHYDŮ V LIHOVINÁCH

Frömmel J.¹, Soural M.², Kopečná M.¹, Kopečný D.¹, Tarkowski P.¹, Vianello F.³, Šebela M.¹

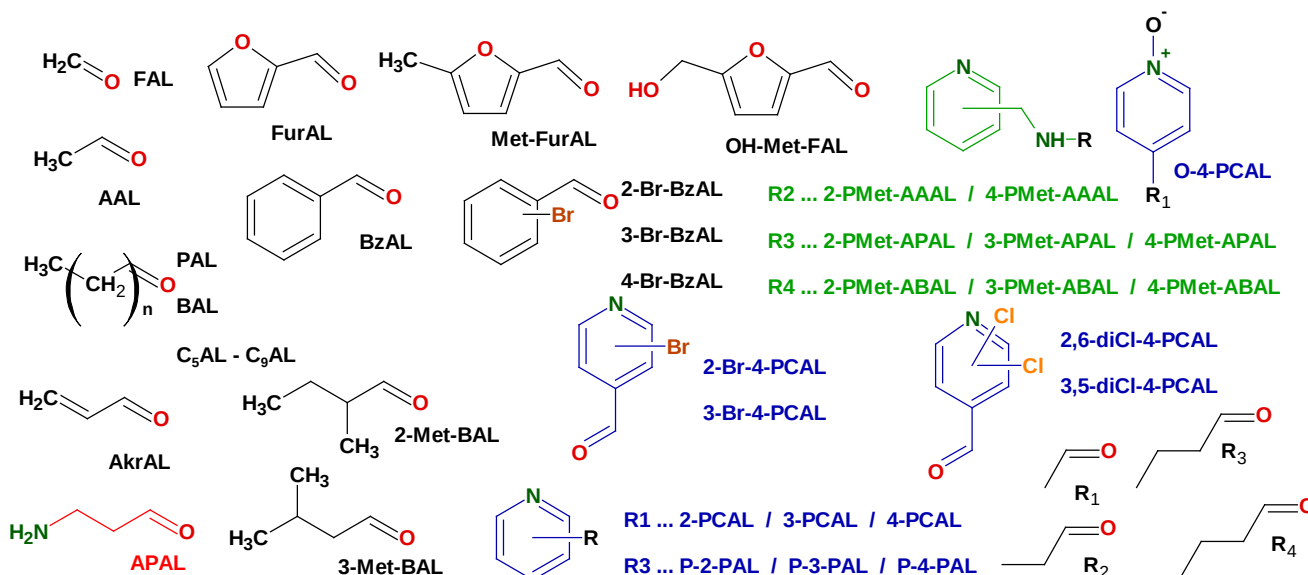
¹⁾ Oddělení biochemie proteinů a proteomiky, Centrum regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum, Přírodovědecká fakulta UP, Šlechtitelů 586/11, 783 71 Olomouc

²⁾ Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta UP, Třída 17. listopadu 1192/12, 771 46 Olomouc

³⁾ Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione, Università degli Studi di Padova, Viale dell'Università, 16, 350 20 Legnaro (PD), Italia

Aldehyddehydrogenasy (ALDH, EC 1.2.1) přeměňují aldehydy na příslušné karboxylové kyseliny za využití koenzymu NAD⁺ (případně NADP⁺) jakožto akceptoru elektronů. Nadrodina ALDH se člení do 24 tříd, z nichž nejméně 12 obsahuje jako zástupce i rostlinné enzymy. Aminoaldehyddehydrogenasy (AMADH, EC 1.2.1.19) se řadí do více tříd, rostlinné enzymy se pro svou nízkou sekvenční identitu (36 - 39 %) s ostatními AMADH řadí do třídy ALDH10 odděleně od savčích, rybích, bakteriálních či houbových AMADH (ALDH9) [1-3]. Rostlinné AMADH nekatalyzují jen výhradně přeměnu lineárních aminoaldehydů, ale oxidují i větvené alifatické aldehydy, benzaldehydy, heterocyklické aldehydy (např. rozmanité deriváty pyridinu, pyrimidinu, purinu či furanu) a mnoho dalších aldehydů. Nejširší substrátovou specifičností z AMADH studovaných v naší laboratoři vykazuje isoenzym 1 z rajčete (*Solanum lycopersicum* syn. *Lycopersicon esculentum*; SIAMADH1) s detailně popsanou krystalovou strukturou [4,5], jež oxiduje aldehydy, které byly detekovány v různých druzích lihovin.

Aldehydy se vyskytují téměř ve všech lihovinách ať už jako fermentační produkty či jako důsledek rozkladu cukrů při vyšších teplotách. Jejich přítomnost ve vyšších koncentracích je nežádoucí jednak pro jejich negativní vliv na senzorycké vlastnosti lihovin a jednak pro jejich toxicitu. Konzumace lihovin s obsahem aldehydů je spojena s nauseou, zvracením, neklidem, pocením, poklesem krevního tlaku, zrychlením tepu či bolestmi hlavy. Například acetaldehyd v přítomnosti alkoholu reaguje s aminoskupinami nukleových kyselin za vzniku smíšených acetalů, což vede k vyššímu riziku rakoviny prsu u žen [6-8].

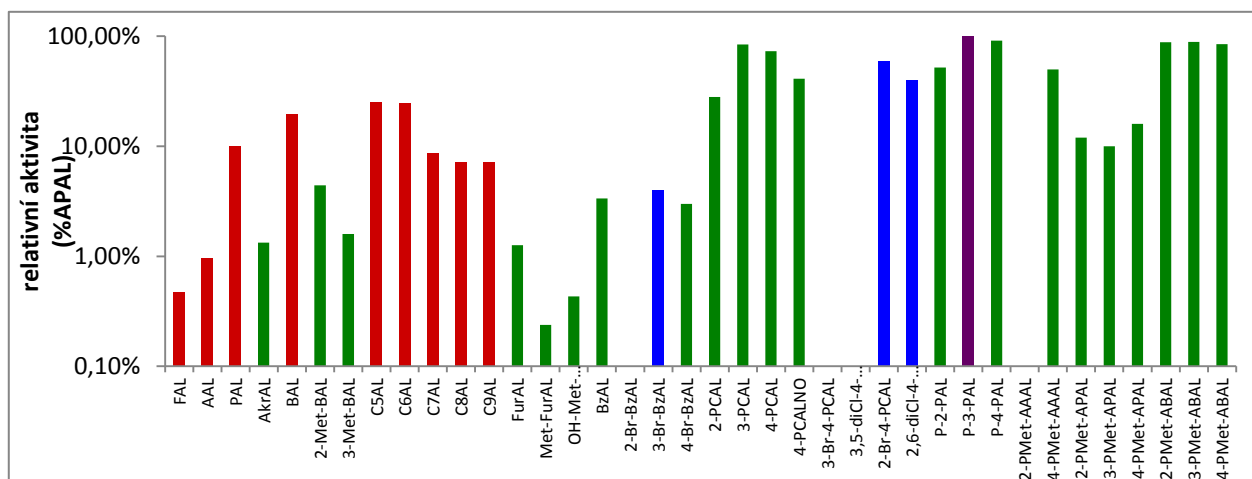


Obr. 2: Vzorce aldehydů testovaných jako substráty SIAMADH1

V našich experimentech jsme využili rekombinantní protein SIAMADH1, který byl vyprodukován v bakteriální kultuře *Escherichia coli*. Z listů a apikálních meristémů sedmidenních semenáčků rajčete jedlého byla extrahována celková RNA za použití kitu Midi Spin

(Macherey-Nagel, Germany). K syntéze příslušné cDNA bylo použito Superscript II reverzní transkriptasy (Invitrogen, USA). Genová sekvence (1515 bp) je v databázi uložena pod kódem AY796114. Pro amplifikaci genu za účelem transformace hostitelských buněk byly využity primery 5'-CAGGGATCCGGCAAATCGTAATGTACCA-3' (forward, restrikční místo pro enzym BamHI) a 5'-CGTCTCGAGCTAATTCTTTGAAGGTGACTTAT-3' (reverse, restrikční místo pro enzym XhoI) [4,5]. Kultivace proběhla ve sterilním LB mediu se streptomycinem ($50 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$), exprese byla indukována $0,1 \text{ mM}$ isopropyl- β -D-1-thiogalaktopyranosidem. Rozbití buněk, extrakce a purifikace proteinu s N-koncovou histidinovou kotvou byla provedena obdobně jako u hrachového izoenzymu 1 [9]. Z 250 ml kultury byly vyizolovány přibližně 2 mg čistého enzymu o specifické aktivitě $53 \text{ nkat} \cdot \text{mg}^{-1}$ naměřené s použitím 1 mM 3-aminopropanalu (APAL), jakožto nejlepšího fyziologického substrátu.

Aldehydy z široké řady zahrnující lineární alifatické aldehydy, benzaldehyd a jeho bromderiváty či heterocyklické aldehydy - deriváty furanu, pyridinu, pyrimidinu, purinu nebo pyrrolopyrimidinu - byly testovány jako substráty SIAMADH1 (Obr. 1). 3-Pyridinylpropanaly byly připraveny Swernovou oxidací odpovídajících alkoholů [10]. Diethylacetaly ω -pyridinmethylaminoaldehydu byly nukleofilní substitucí příslušného heterocyklického chloroderivátu s použitím diethylaacetalů aminoacetaldehydu, 3-aminopropanalu či 4-aminobutanalu [11]. Ostatní aldehydy byly zakoupeny u firmy Sigma-Aldrich.



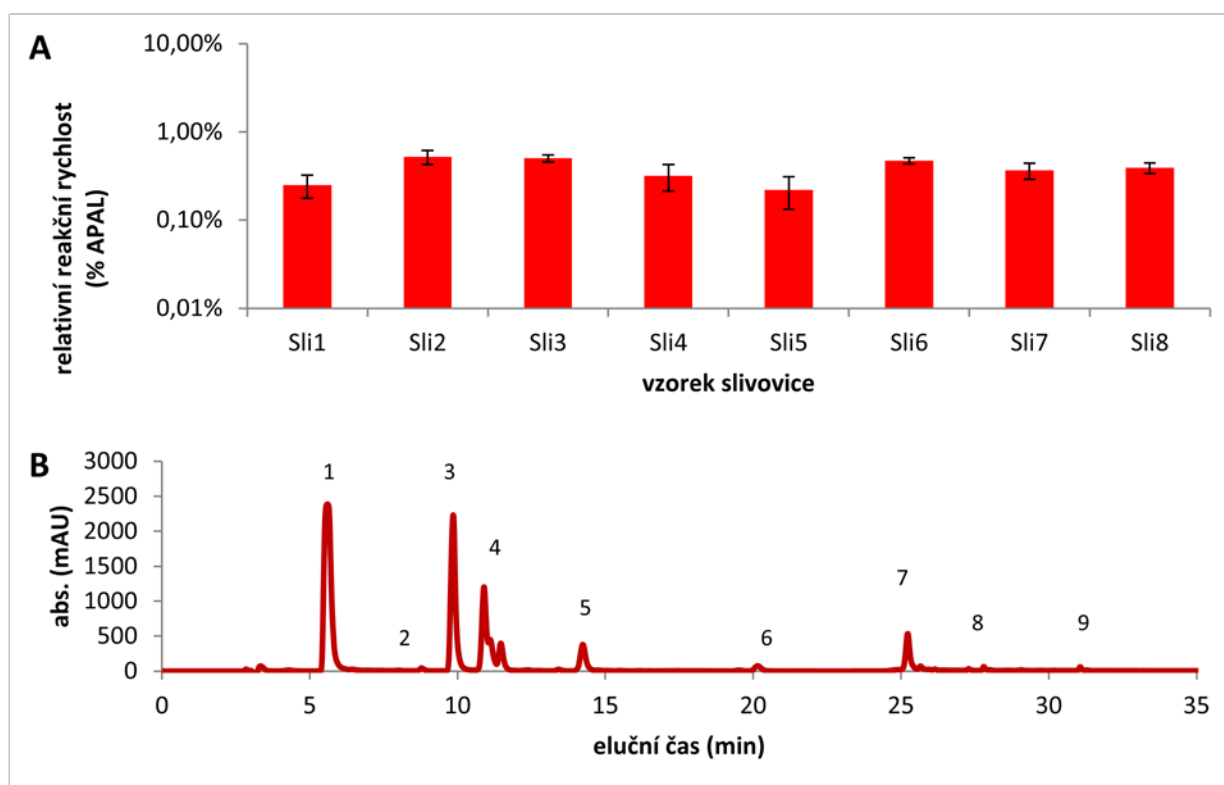
Obr. 3: Substrátová specifičnost SIAMADH1 - srovnání testovaných aldehydů se substrátem APAL ($[S] = 1,0 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$)

Studium substrátové specifičnosti bylo provedeno pomocí spektrofotometrického měření při 340 nm založeném na Warburgově optickém testu [12] s použitím testovaných aldehydů při 1 mM koncentraci. Reakční směs obsahovala 1,55 ml pufru (Tris-HCl, $0,15 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, pH 9,0), 50 μl 20mM NAD^+ , roztok enzymu, 20 μl 100mM roztoku substrátu a vodu k doplnění do konečného objemu 2,0 ml. Reakce byla startována přidávkou substrátu ke zbylým složkám reakční směsi. V grafu (Obr. 2) je uvedena relativní aktivita enzymu vzhledem k rychlosti přeměny pro APAL. Téměř všechny aldehydy byly pomocí SIAMADH1 oxidovány. U halogenderivátů benzaldehydu a 4-pyridinkarbaldehydu nedochází k oxidaci v případě substituce na vicinální poloze vůči karbaldehydové skupině, u substitucí ostatních uhlíků aromatického cyklu je enzym aktivní (modře). Nejvyšší aktivita byla v případě alifatických aldehydů pozorována u přeměny pentanalů, ostatní aldehydy a jejich isomery byly oxidovány pomaleji (červeně). Více než 100 % aktivita byla pozorována jen pro 3-pyridin-3-ylpropanal (P-3-PAL, fialově), nejedná se však o lepší substrát než APAL, jelikož vyšší reakční rychlost je způsobena masivní inhibicí substrátem v případě APALu.

Pro měření obsahu aldehydů v destilátech byla získána řada slivovic z různých domácích produkcí, které byly testovány jakožto „substráty“ SIAMADH1 a výsledky porovnány s fyziologickým substrátem (APAL, $c = 1,0 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$). Po přidání 50 μl vzorku do celkového

objemu 2 ml reakční směsi ve složení shodném se studiem substrátové specifčnosti se relativní reakční rychlost vzhledem k oxidaci APALu pohybovala pod 1 %..

Jako referenční metodu ke stanovení obsahu aldehydů jsme využili HPLC s UV detekcí po derivatizaci vzorků 2,4-dinitrofenylhydrazinem (DNPH) v kyselém prostředí [8, 13]. K 1 ml vzorku bylo přidáno 250 μ l 0,4 % DNPH rozpuštěného v acetonitrilu a 12,5 μ l 1mM HClO₄ a reakční směs byla za mírného třepání a laboratorní teploty inkubována 1 hodinu. Na kolonu Kinetex 2,6 u C₁₈ 100A (150 x 4,6 mm) bylo nanášeno 10 μ l vzorku bez jakékoliv prekoncentrace. Jako mobilní fáze byla použita směs vody a methanolu při průtoku 0,5 ml·min⁻¹. Ve všech vzorcích slivovic byly pomocí standardů detekovány rozmanité aldehydy. Ve vysoké koncentraci se ve všech vzorcích nacházel acetaldehyd (AAL) a 5-hydroxymethylfurfural (OH-Met-FurAL), v menším množství pak další lineární alifatické aldehydy, furfural, benzaldehyd, 5-methylfurfural či akrolein (Obr. 3B).



Obr. 4: Analýza obsahu aldehydů ve vzorcích slivovic. (A) Měření s volným enzymem - srovnání rychlosti oxidace slivovic a APALu. (B) HPLC analýza vzorku Sli1 - červeně chromatografický záznam (1 - nezreagovaný DNPH, 2 - formaldehyd, 3 - 5-hydroxymethyl-furfural, 4 - acetaldehyd, 5 - furfural, 6 - benzaldehyd, 7 - 3-methylbutanal, 8 - hexanal, 9 - nonanal), zeleně obsah metanolu v mobilní fázi.

Na povrchově aktivní nanočástice připravené z maghemitu [14] byla imobilizována nejen SIAMADH1, ale i diaforasa (NADH oxidasa, EC 1.8.1.4). Oba enzymy byly imobilizovány na samostatné nanočástice. K 1 mg nanočástic rozsuspendovaných v 1 ml pufru bylo přidáno 0,1 mg SIAMADH1 a směs byla inkubována za mírného třepání při teplotě 4 °C po dobu 1,5 hodiny. Účelem imobilizace je možnost opakovaného použití enzymu, použití diaforasy pak dává možnost vizuální detekce odbarvením modrého 2,6-dichlorofenolindofenolu (DCPIP) ve spřažené reakci reoxidující koenzym NADH na NAD⁺. Hodnota K_m vzrostla u SIAMADH1 po imobilizaci z 29 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ na 110 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.

Rostlinné AMADH se vyznačují širokou substrátovou specifíčností vzhledem k alifatickým, aromatickým i heterocyklickým aldehydům. Zdaleka nejširší specifíčnost ze studovaných enzymů vykazuje SIAMADH1, která byla v této práci využita pro tvorbu biosenzoru.

Enzym byl imobilizován na magnetické nanočástice, které byly použity pro přípravu elektrody využitelné při chronoamperometrickém či lineárně voltametrickém stanovení NADH vznikajícího při enzymové reakci SIAMADH1. Druhým použitým způsobem detekce je využití spřažené reakce SIAMADH1 a diaphorasy, kdy zpětnou oxidací NADH dochází k redukci modrého DCPIP na bezbarvou redukovanou formu.

Všechny testované vzorky slivovice vykazovaly přítomnost aldehydů nejen dle měření s enzymem, ale i při využití referenční metody HPLC. Nejčastěji detekovanými aldehydy byly acetaldehyd, furfural, hydroxymethylfurfural, formaldehyd, benzaldehyd, butanal, pentanal či hexanal. Dalším krokem v naší práci bude měření s reálnými vzorky lihovin. V následujícím období bude provedeno měření i s dalšími druhy nápojů.

Literatura:

- 1 Kirch H.H., Bartels D., Wei Y., Schnable P.S., Wood A.J. (2004) *Trends Plant Sci.* **9**, 371-377
- 2 Sophos N.A., Vasiliou V. (2003) *Chem Biol Intract.* **143-144**, 5-22
- 3 Vasiliou V. & Nebert D.W. (2005) *Hum. Genomics* **2**, 138-143
- 4 Frömmel J., Soural M., Tylichová M., Kopečný D., Demo G., Wimmerová., Šebela M. (2012) *Amino Acids* **43**, 1189-1202
- 5 Kopečný D., Končítíková R., Tylichová M., Vigouroux A., Moskalíková H., Soural M., Šebela M., Moréra S. (2013) *J. Biol. Chem.* **288**, 9491-9507
- 6 Frenkel-Conrat H. & Singer B. (1974) *Proc. Natl. Acad. Sci.* **85**, 3758-3761
- 7 López-Vázquez C., Bollain M.H., Moser S., Orriols I. (2010) *J Agric Food Chem.* **58**, 9657-9665
- 8 Nascimento R. F., Marques J. C., Neto B. S. L., De Keukeliere D., Franco D. W. (1997) *J. Chromatogr. A* **728**, 13-23
- 9 Tylichová M., Briozzo P., Kopečný D., Ferrero J., Moréra S., Joly N., Snégaroff J., Šebela M. (2008) *Pisum sativum. Acta Crystallogr. F-Struct. Biol. Cryst. Commun.* **64**, 88-90
- 10 Omura K., Swern D. (1978) *Tetrahedron* **34**, 1651-1660
- 11 Sánchez-Sandoval A., Alvarez-Toledano C., Gutierrez-Pérez Y., Reyes-Ortega Y. (2003) *Synth Commun.* **33**, 481-492
- 12 Warburg O., Christian W. (1943) *Biochem. Z.* **314**, 149-176
- 13 Uchiyama S., Inaba Y., Kunugita N. (2011) *J. Chromatogr. B* **879** 1282-1289
- 14 Magro. M., Sinigaglia G., Nodari L., Tuček J., Poláková K., Marušák Z., Salviulo G., Russo U., Stevanato R., Zbořil R., Vianello F. (2012) *Acta Biomaterialia* **8**, 2068-2076

P 8**KVALITATIVNÍ ZNAKY ČESNEKU: ZHODNOCENÍ MOŽNOSTÍ AUTENTIZACE ČESKÉHO ČESNEKU**Grégrová A.¹, Čížková H.¹, Vrácovská E.¹, Rajchl A.¹, Voldřich M.¹

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

Úvod

Česnek (*Allium sativum* L.) patří mezi nejstarší celosvětově pěstované zemědělské plodiny. Je využíván zejména jako potravina a k lékařským účelům. Česnek je bohatým zdrojem fytonutrientů přispívajících k léčbě a prevenci řady onemocnění, např. rakoviny, obezity, kardiovaskulárních onemocnění aj. Prospěšné účinky souvisí také s obsahem sirných sloučenin, thiosulfínátů, které jsou zodpovědné za štiplavou a ostrou chuť i vůni česneku. Česnek dále obsahuje i více polární sloučeniny fenolického a steroidního původu, často glykosilované. Současný kvalitativní standard pro česnek byl definován Nařízením komise (ES) č. 2288/97, kterým se stanoví obchodní norma pro česnek. [1-3]

Světová produkce česneku se pohybuje celkově okolo 23,7 milionů tun, přičemž hlavním producentem je Čína (19,2 milionů tun) následovaná Indií a Egyptem (1,1 and 0,3 milionů tun). [4] Produkce česneku v České republice poklesla mezi lety 1997–2011 z 8 177 tun/rok na pouhých 322 tun/rok [4]; ovšem import ze zahraničí (zejména z Číny) vzrostl na 4 000 tun. [5]

Snahou pěstitelů v poslední době je, aby se český česnek vrátil na český trh a došlo ke zvýšení rosyahu pěstitelských ploch. Domácí produkce česneku je však stále likvidována dovozem ze zahraničí. Díky zvýšené poptávce po českém česneku a jeho poměrně vysoké ceně je spotřebitel často klamán, tj. dochází k označování a prodeji levnějšího zahraničního česneku jako česneku českého původu.

Cílem této práce bylo určení a porovnání kvalitativních parametrů českého česneku od různých pěstitelů. Na základě údajů z odborné literatury byly zvoleny kvalitativní znaky spojené se štiplavostí a pronikavostí vůně a ověřeny analytické metody jejich stanovení. U každého vzorku byl proveden test štiplavosti na základě obsahu pyruvátu (spektrofotometricky), stanoven obsah prekurzoru (aminokyselina alliin) metodou HPLC, stanoven profil a obsah charakteristických těkavých látek (SPME-GC/MS) a stanovena vlhkost gravimetricky. Výsledky byly korelovány se senzorickým (hédonickým) hodnocením vzorků.

Materiál a metody

Celkem bylo analyzováno 22 vzorků českého původu od různých pěstitelů (sklizeň 2012) zahrnujících 4 registrované a 3 neregistrované české odrůdy (více než polovina vzorků byly odrůdy krajové; **Tab. 1**).

Pro analýzy bylo použito 0,5 kg každého vzorku; 10 stroužků bylo odebráno nezávisle z 5 různých cibulí (2 stroužky z jedné cibule). Byla provedena 3 nezávislá měření pro každý parametr.

Stanovení vlhkosti

Z vylisovaného česneku bylo odebráno cca 5 g česneku, vzorky byly promíchány s mořským pískem a sušeny při 105 °C po dobu 4 hod do konstantní hmotnosti a poté zváženy. [2]

Stanovení štiplavosti

5 g vylisovaného česneku bylo naváženo do 20 ml destilované vody. Pro přípravu kontrolního vzorku bylo naváženo 5 g oloupaného česneku, který byl umístěn do mikrovlnné trouby (650 W, 30 s: inaktivace enzymů) a následně vylisován a navážen do 20 ml destilované vody. Vzorky byly homogenizovány na třepačce (2 min) a převedeny do 1 000 ml destilované vody. Takto připravené homogenizáty byly ponechány při laboratorní teplotě 15 min a následně zfiltrovány přes skládaný papírový filtr. Do reakčních zkumavek byly napipetovány 2 ml filtrátu a 1 ml roztoku

2,4-dinitrophenylhydrazinu ve 2 M kyselině chlorovodíkové ($0,125 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ DNPH ve 2 M HCl); pro slepý vzorek 2 ml destilované vody a 1 ml DNPH a pro kalibrační řadu 2 ml z kalibračního roztoku pyruvátu sodného a 1 ml DNPH. Všechny zkumavky byly homogenizovány na vortexu a následovala inkubace ve vodní lázni (37°C , 15 min). Poté bylo do zkumavek přidáno 5 ml 1,5 M NaOH a promícháno. Obsah pyruvátu byl stanoven spektrofotometricky při 420 nm. [6]

Stanovení obsahu alliinu

Příprava analytického vzorku: cca 10 g oloupaných stroužků česneku bylo naváženo s přesností na dvě desetinná místa do vysoké 100 ml kádinky. Poté byl vzorek zalit 50 ml vroucí destilované vody a vařen nad plynovým kahanem po dobu 15 min. Následně byl vzorek vychlazen tekoucí vodou na laboratorní teplotu a homogenizován po dobu 3 min mixérem (Ultra-Turrax). Homogenizát byl převeden do odměrné baňky na 100 ml a doplněn po rysku destilovanou vodou. Poté byl tento homogenizát (2 ml) převeden do kyvety a odstředěn při teplotě 4°C na otáčky: 16 000 po dobu 10 min. 1 ml supernatantu byl odpipetován do 10 ml odměrné baňky a doplněn mobilní fází po rysku. Po filtraci přes PTFE 0,45 mikrofítr byl vzorek nastříknut na kolonu kapalinového chromatografu (Agilent 1290 Infinity LC, USA). Chromatografické podmínky: kolona Macherey-Nagel Nucleosil 100-5 NH₂ ($250 \times 4,6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$), průtok $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, mobilní fáze: acetonitril voda (52/48 v/v), teplota na koloně 30°C , detekce DAD, vlnová délka 210 nm; vnější kalibrace, ověření analytu za pomoci UV spektra, každý vzorek měřen dvakrát. [7]

Senzorická analýza

Senzorické hodnocení bylo provedeno 10 panelisty z Ústavu konzervace potravin (VŠCHT Praha). Pro hédonické hodnocení celkové kvality, intenzity vůně (aroma – štiplavost) po rozříznutí stroužku byla využita pětibodová stupnice (5 = vynikající, 4 = velmi dobré, 3 = dobré, 2 = uspokojivé a 1 = slabé). Senzorické hodnocení probíhalo dvakrát denně vždy po 4 vzorcích. [2]

Tab. 1 Specifikace analyzovaných vzorků česneku

Číslo vzorku	Lokalita	Odrůda	Číslo vzorku	Lokalita	Odrůda
1	Zlonice	Krajová	12	Klobouky u Brna	Havran
2	Roudnice nad Labem	Sibiřák	13	Hrubá Vřba	Benátčan
3	Brozany nad Ohří	Krajová	14	Lipovec	Krajová
4	Kostomlaty pod Řípem	Vekan	15	Drnovice	Krajová
5	Louny	Krajová	16	Kameničná	Bjetin
6	Brozany nad Ohří	Krajová	17	Vojničky	Krajová
7	Vratislavice nad Nisou	Vekan	18	Troskotovice	Krajová
8	Šimonovice	Vekan	19	Praha	Vekan
9	Znojmo	Krajová	20	Uherské Hradiště - Bílovice	Bjetin
10	Lkáň	Krajová	21	Slaný	Goulurouse
11	Trutnov	Krajová	22	Morkovice	Krajová

Stanovení profilu a obsahu těkavých látek

Vzorek byl oloupan a nakrájen na tenké plátky a ihned navážen do 10ml vialky (0,05 g) s přidavkem 5 ml destilované vody a 0,5 µl roztoku vnitřního standardu (benzyl methyl sulfid). Takto připravené vzorky byly vloženy do autosampleru a analyzovány metodou SPME-GC/MS (Agilent Technologies 7890A/5975C, USA). Každý vzorek byl měřen čtyřikrát. Chromatografické podmínky: SPME vlákno (50/30 µm, DVB/CAR/PDMS Stable Flex), inkubace při 30 °C po dobu 60 s, extrakce 180 s, desorpce 300 s; kolona HP-5MS (Agilent Technologies, USA) 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm; teplotní program: 50 °C (3 min), nárůst teploty rychlostí 5 °C·min⁻¹ na 210 °C, celkový čas analýzy: 35 min, teplota injektoru: 250 °C, teplota detektoru: 280 °C; nosný plyn: He, průtok 1 ml·min⁻¹. Identifikace látek byla provedena srovnáním s knihovnou hmotnostních spekter (NIST) a kvantifikace metodou vnitřního standardu na obsah diallyl disulfidu (DADS). [8]

Statistická analýza

Naměřená data byla zpracovávána 2 statistickými postupy analýzy vícerozměrných dat, tj. korelační maticí a shlukovou analýzou (program Statistica 8.0, StatSoft ČR).

Výsledky a diskuse

Výsledné hodnoty stanovovaných parametrů jsou pro všechny vzorky shrnuty v **Tab. 2**. Korelace mezi analyzovanými parametry se vztahem ke štiplavosti jsou uvedeny v **Tab. 3**. Z výsledků je zřejmé, že aroma (štiplavost) je nejvíce ovlivněna koncentrací alliinu ($r = 0,86$) a pyruvátu ($r = 0,78$). Je patrná nedostatečná korelace mezi zastoupením a obsahem těkavých látek s dalšími analyzovanými parametry. Na základě shlukové analýzy (**Obr. 1**) nebyly zjištěny signifikantní rozdíly mezi vzorky různého botanického a geografického původu.

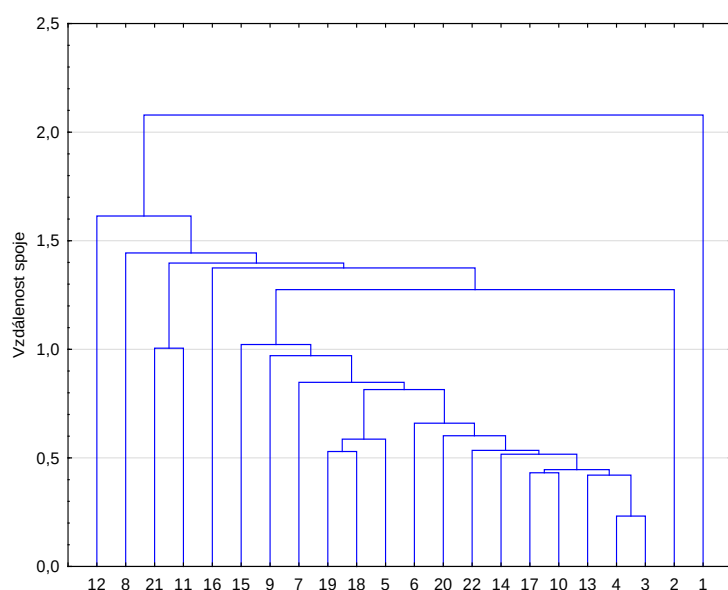
Tab. 2 Charakterizace analyzovaných vzorků česneku českého původu

Číslo vzorku	Vlhkost [%]	Štiplavost [µmol·g ⁻¹]	Alliin [g·kg ⁻¹]	Těkavé sloučeniny [g·kg ⁻¹]	DADS [%]	Senzorická analýza (aroma)
1	55,0	15,5	3,5	0,5	86,0	2,7
2	60,3	51,1	6,6	1,2	71,1	3,5
3	60,5	36,9	5,2	0,1	71,4	3,4
4	60,0	34,8	5,0	0,1	82,3	3,2
5	61,3	50,4	5,8	0,1	80,6	3,5
6	59,5	44,1	4,6	0,1	76,6	3,5
7	61,9	28,0	4,3	<0,1	80,6	3,1
8	61,7	52,5	3,5	0,1	87,3	3,2
9	59,9	62,7	6,4	0,1	77,3	3,5
10	60,6	30,4	4,9	0,4	92,2	3,5
11	68,6	28,3	3,3	0,7	85,7	3,0
12	66,0	42,9	6,6	0,7	74,4	3,6
13	60,8	36,9	5,5	0,3	88,9	3,5
14	60,5	32,5	4,4	0,6	86,2	3,1
15	62,7	35,7	3,2	0,7	80,9	3,0
16	61,6	30,0	2,9	0,2	84,8	2,9
17	59,9	31,5	5,4	0,3	86,3	3,2
18	60,9	49,6	6,2	0,4	69,9	3,5
19	61,5	52,7	5,7	0,6	67,9	3,6
20	59,0	43,7	5,9	0,1	79,8	3,5
21	65,6	30,2	3,8	0,6	78,7	3,0
22	58,6	37,4	5,3	0,2	67,4	3,4

Tab. 3 Korelační matice sledovaných parametrů

	Vlhkost [%]	Štiplavost [$\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$]	Alliin [$\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$]	Těkavé sloučeniny [$\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$]	DADS [%]	Senzorická analýza (aroma)
Vlhkost [%]	1,00					
Štiplavost [$\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$]	0,00	1,00				
Alliin [$\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$]	-0,17	0,58	1,00			
Těkavé sloučeniny [$\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$]	0,34	-0,04	0,06	1,00		
DADS [%]	0,02	-0,22	-0,51	-0,15	1,00	
Senzorická analýza (aroma)	-0,04	0,78	0,86	-0,08	-0,47	1,00

Hodnoty tučným písmem = významná korelace na hladině $\alpha = 0,05$; [%] = relativní zastoupení těkavých látek.

**Obr. 1** Dendrogram analyzovaných vzorků (proměnné: vlhkost, štiplavost, alliin a těkavé látky)

Závěr

U klíčových kvalitativních parametrů s přímým vztahem k charakteristické chuti a vůni česneku byly zjištěny následující hodnoty (vždy průměr $\pm$ směrodatná odchylka; v závorce jsou pak pro srovnání uvedeny literární údaje):

- štiplavost: $40,6 \pm 11,8 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ ($31,6\text{--}88,3 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ [9, 10]);
- obsah alliinu: $4,9 \pm 1,2 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ($4,5\text{--}21,8 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ [9, 11]);
- obsah těkavých látek: $0,4 \pm 0,3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ($1,2\text{--}2,4 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ [12, 13]);
- relativní zastoupení DADS: $79,8 \pm 7,1 \%$ ($6,0\text{--}97,9 \%$ [13, 14]).

Variabilita naměřených hodnot odpovídá očekávání. Nebyl potvrzen vliv odrůdy a lokality pěstování na obsah aktivních látek. Relativně rozsahem omezený výzkum (jeden ročník, pouze česnek českého původu) nepotvrdil významné odlišnosti naměřených hodnot od těch uváděných v odborné literatuře pro česneky různého geografického původu. Z tohoto důvodu není možno zvolené znaky použít k autentizaci českého česneku, ale pouze jako indikátory kvality.

Poděkování

Výzkum vznikl z podpory projektů MŠMT č. 20/2013 a z podpory projektu MZe č. QI91B283. Autoři by rádi poděkovali společnosti Česnek od pěstitele s.r.o. (Doudlebská 1046/8, 140 00 Praha 4) za poskytnuté vzorky.

Použitá literatura

1. Lanzotti V. J Chromatogr A (2006) 1112: 3–22.
2. Pardo J.E., Escribano J., Gómez R., Alvarruiz A. J Food Qual (2007) 30: 609–622.
3. Commission Regulation (EC) No 2288/97 of 18 November 1997 laying down marketing standards for garlic.
4. FAO (2011): FAOSTAT. Dostupné z: <http://faostat3.fao.org/home/index.html#DOWNLOAD> (cit. 27.4. 2013).
5. Ministerstvo zemědělství české republiky (2011): Situační a výhledová zpráva zelenina.
6. Schwimmer S., Weston W. J Agric Food Chem (1961) 9: 301–304.
7. Dethier B., Laloux M., Hanon E., Nott K., Heuskin S., Wathélet J.P. Talanta (2012) 101: 447–452.
8. Clemente J., Williams J., Cross M., Chambers C. Open Food Sci J (2011) 6: 1–4.
9. Gonzáles R.E., Soto V.C., Sance M.M., Camargo A.B., Galmarini C.R. J Agric Food Chem (2009) 57: 10282–10288.
10. Pöldma P., Tõnutare T., Viitak A., Luik A., Moor U. J Agric Food Chem (2011) 59: 5498–5503.
11. Mochizuki E., Nakayama A., Kitada Y., Saito K., Nakazawa H., Suzuki S., Fujita M. J Chromatogr (1988) 455: 271–277.
12. Kim S.M., Wu Ch.M., Kubota K., Kobayashi A. J Agric Food Chem (1995) 43: 449–452.
13. Kimbaris A.C., Siatis N.G., Daferera D.J., Tarantilis P.A., Pappas Ch.S., Polissiou M.G. Ultrason Sonochem (2006) 13: 54–60.
14. Lee S.-N., Kim N.-S., Lee D.-S. Anal Bioanal Chem (2003) 377: 749–756.

P 9**ADSORPCE ETHYLENU POMOCÍ CHEMICKY UPRAVENÝCH PŘÍRODNÍCH KAOLÍNŮ**

Pohůnek V., Ševčík R., Marek M., Škorpilová T., Voldřich M.

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

Ethylen se využívá k urychlení zrání různých druhů ovoce. Ve skladech s řízenou atmosférou je proto žádoucí sledovat jeho koncentraci. Z toho důvodu se využívají různé systémy filtrace vzduchu ze skladů. Schopnost adsorpce ethyleny se využívá v různých typech absorbérů (tekuté nebo pevné náplně). Vzhledem k velkým objemům plynů je nejvýhodnější použít takové absorbéry, které mají nejdelší životnost. V této práci byla sledována účinnost chemické modifikace přírodních kaolínů na adsorpci ethyleny. Přírodní kaolíny mají schopnost adsorbce, jejich chemickou modifikací se tato schopnost zvyšuje. Byla nalezena korelace mezi schopností adsorpce ethyleny u chemicky modifikovaných kaolínů a kaolínů bez chemické modifikace.

Chemická modifikace vzorků

- K 5 g navážky vzorku bylo přidáno 50 ml 0,5 mM roztoku BTC ve vodě (alkylbenzyltrimethylammonium chlorid). Po občasném promíchání po dobu 1 h bylo přidáno 50 ml 5,0 mM roztoku KNO_3 ve vodě. Po občasném promíchání po dobu 1 h byl produkt po 24 h zfiltrován a vysušen při 105°C 1 h.
- K 10 g navážky vzorku byl přidán 1% roztok KMnO_4 ve vodě. Po občasném promíchání v rozmezí 6 h byl produkt po 24 h zfiltrován

Stanovení adsorpce ethyleny pomocí detekčních trubic**Detekční trubice:** GASTEC Japan 172; 80878; C_2H_4 ; 1000 ppm

- Navážení cca 1 g vzorku do sklenic (310 ml), nástřik 1 ml ethyleny. Odběr 5 ml plynu po 10 minutách přes detekční trubici. Opakování každých 10 minut po dobu 1 h. Po každém měření odečít úbytku koncentrace ze stupnice na detekčních trubicích.
- Detekční trubice slouží k orientačnímu stanovení obsahu ethyleny ve vzduchu například v ovocných skladech. Přesný odečet úbytku koncentrace ethyleny pomocí detekčních trubic nebyl zaznamenáván, bylo pouze orientačně zjištěno, jestli lze nebo nelze úbytek tímto způsobem detekovat.

Tabulka I. Druhy vzorků kaolínů, jejich modifikace a výsledky měření adsorpce ethyleny pomocí detekčních trubic.

Číslo vzorku	1	2	3	4	5	6	7	8
Vzorek	Borcat	Jemná frakce křemeliny	Kaolin KKA HB	F 10	Borcat	Jemná frakce křemeliny	Kaolin KKA HB	F 10
Modifikace	0,5 mM BTC; 5,0 mM KNO_3	0,5 mM BTC; 5,0 mM KNO_3	0,5 mM BTC; 5,0 mM KNO_3	0,5 mM BTC; 5,0 mM KNO_3	1% KMnO_4	1% KMnO_4	1% KMnO_4	1% KMnO_4
Adsorpce	ND	ND	ND	ND	NiD	NiD	NiD	NiD

ND...nedetekována, NiD...nízká detekce

Stanovení adsorpce ethylenu pomocí GC/FID

Navážení cca 1 g každého vzorku do 310 ml sklenic, nástřik 0,5 ml ethylenu. Odběr 0,2 ml plynu (nástřik) každých 10 minut do 1 hodiny.

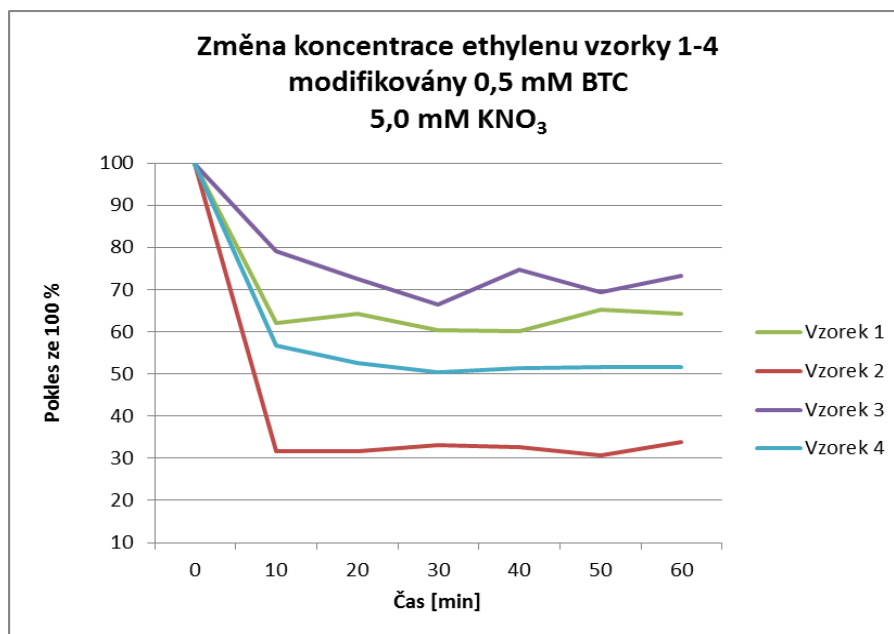
Podmínky GC/FID:

KOLONA: GS - ALUMINA – 30m x 0,530mm

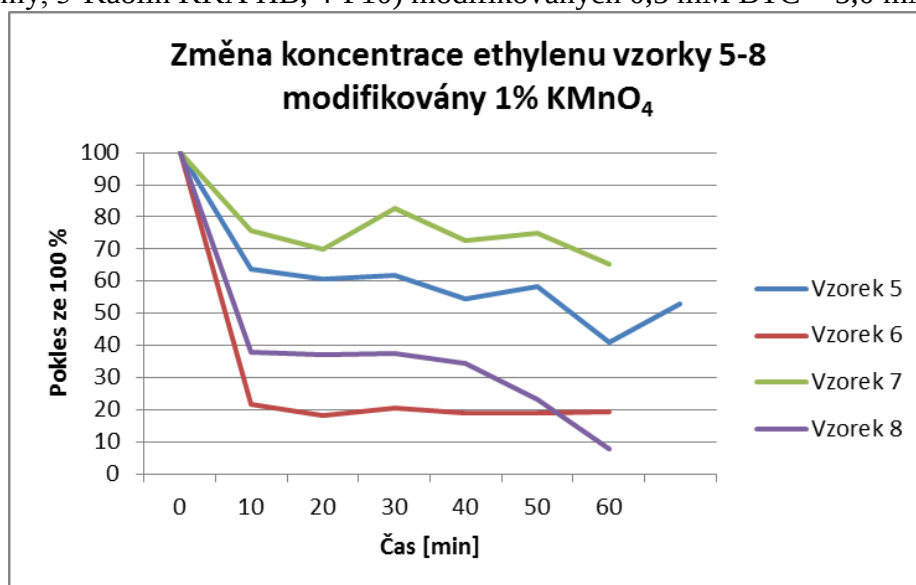
NÁSTŘIK: T=250°C

TEPLOTNÍ PROGRAM: 40°C; 15°C/min; 80°C (6min)

DETEKTOR: FID, T=250°C



Graf 1. Změna koncentrace ethylenu za sledované období u vzorků (1-Borcat, 2-Jemná frakce křemeliny, 3-Kaolin KKA HB, 4-F10) modifikovaných 0,5 mM BTC + 5,0 mM KNO₃



Graf 2. Změna koncentrace ethylenu za sledované období u vzorků (5-Borcat, 6-Jemná frakce křemeliny, 7-Kaolin KKA HB, 8-F10) modifikovaných 1% KMnO₄

Závěry:

- Mezi chemicky modifikovanými sorbenty dosáhly největšího úbytku vzorky číslo 5 a 8 což jsou Borcat + 1% KMnO_4 a F 10 + 1% KMnO_4
- Při porovnání vzorků s chemickou a bez chemické modifikace dosahují lepších výsledků vzorky bez chemické modifikace s výjimkou vzorku F 10 + 1% KMnO_4

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.20/2013)

Reference:

1. NOPBHASINTHU PATDHANAGUL, KUNWADEE RANGSRIWATANANON, KHATCHRIN SIRIWONG, SUNANTHA HENGRASMEE. Combined modification of zeolite NaY by phenyl trimethyl ammonium bromide and potassium for ethylene gas adsorption. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2012, vol. 153, p. 30–34.
2. GASTEC No. 172L Instructions for Ethylene Detector Tube. GASTEC.
<http://www.gastec.co.jp/english/products/frame.php?place=seihin/c1.htm> (accessed Dec 16, 2012).
3. NIRAMAI SUE-AOK, TIPAPORN SRITHANRATANA, KUNWADEE RANGSRIWATANANON, SUNANTHA HENGRASMEE. Study of ethylene adsorption on zeolite NaY modified with group I metal ions. *Applied Surface Science*, 2010, vol. 256, p. 3997–4002.
4. BURCU ERDOĞAN, MERYEM SAKIZCI, ERTUĞRUL YÖRÜKOĞULLARI. Characterization and ethylene adsorption of natural and modified clinoptilolites. *Applied Surface Science*, 2008, vol. 254, p. 2450–2457.
5. EUN YOUNG CHOI, SOO YEON KIM, YANG KIM, KARL SEFF. Crystal structure of an ethylene sorption complex of fully dehydrated, fully oxidized, fully Ag⁺-exchanged zeolite X. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2003, vol. 62, p. 201–210.

P 10**KVALITA MINIMÁLNĚ OPRACOVANÉHO OVOCE**

Rajchl A., Kovařík F.

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

Úvod

Minimálně opracované ovoce (MOO) je jedna z komodit, která v současné době zažívá značný rozkvět. Minimálně opracované ovoce je z hlediska mikrobiální kontaminace velmi citlivý produkt, ovšem vzhledem k přirozeně nízkému pH ovoce, okyselení produktu během výroby a skladováním při chladírenských teplotách lze dosáhnout uspokojivé doby trvanlivosti. Mezi faktory ovlivňující senzorické vlastnosti MOO, patří změny barvy (zejména reakce enzymového hnědnutí) a textury (měknutí pletiv). Tyto změny lze minimalizovat správně nastavenou technologií, kdy pro daný ovocný druh a odrůdu je třeba zvolit optimální složení stabilizačních lázní.

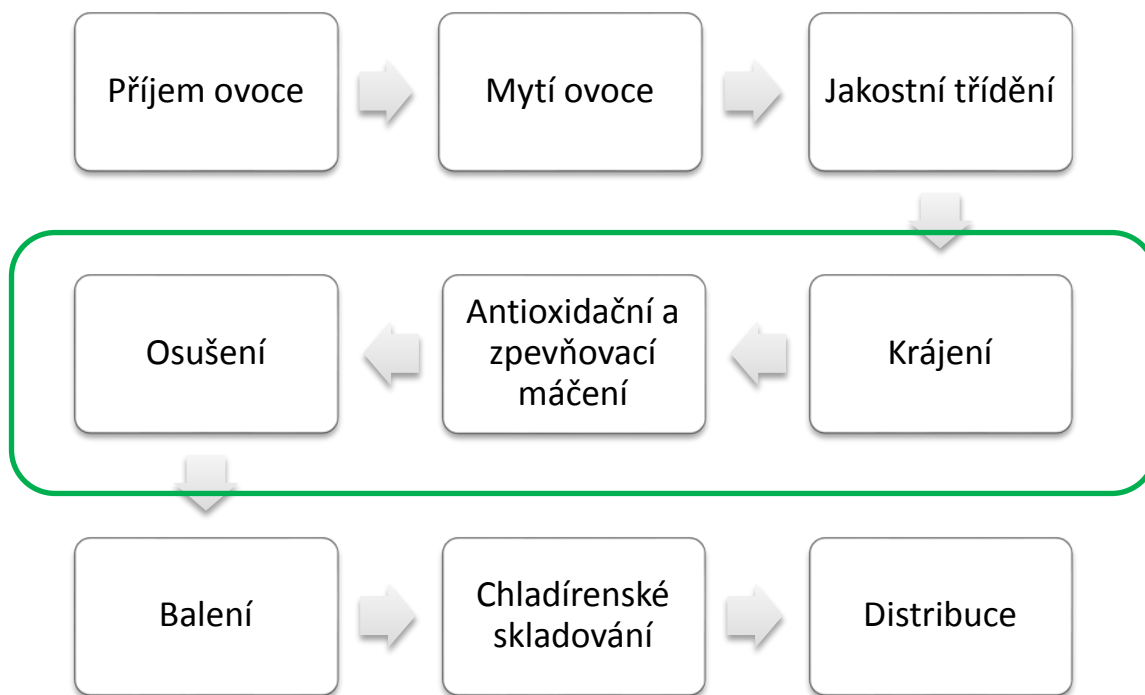
Mezi nejčastěji používané prostředky pro stabilizaci barvy patří kyselina askorbová a pro zpevňování pletiv lze využít vápenatých solí. Další z klíčových prvků prodloužení trvanlivosti je balení MOO do modifikované atmosféry. Bylo zjištěno, že dodržováním správné výrobní praxe, velmi vysokého hygienického standardu výroby a dodržováním teplotního řetězce během výroby a skladování MOO je možno vyrobit kvalitní produkt, který je v určitých ohledech plnohodnotnou alternativou čerstvému ovoci.

Výsledky a diskuze

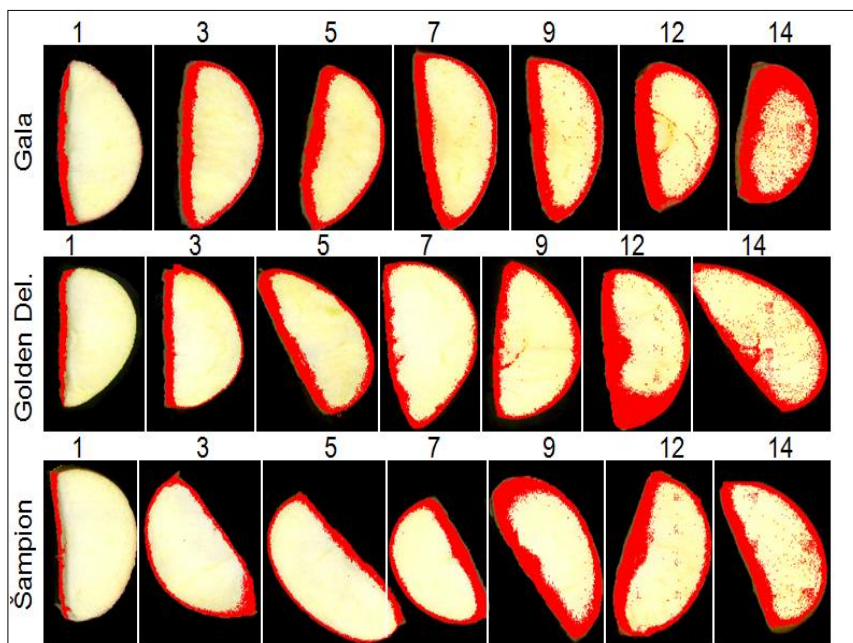
Obecné schéma výroby minimálně opracovaného ovoce je uvedeno na obrázku 1. Jednou ze základních podmínek výroby je volba vhodné odrůdy, a to zejména s ohledem na aktivitu enzymů, pevnost dužniny apod. Následuje důkladné mytí ovoce, kdy zvláštní zřetel musí být kladen na mikrobiální kvalitu mycí vody. Dalším prvkem je jakostní třídění, které je možné provádět již při přísunu suroviny, či až po jejím omytí. Následuje samotná technologie sestávající se nejčastěji z krájení na různé tvary popř. loupání, antioxidační a zpevňovací máčení a po osušení povrchu plodů jejich balení. Plody jsou baleny do modifikované atmosféry, nastavení parametrů složení je závislé na ovocném druhu, jeho fyziologickém stavu, skladovacích podmínkách, obalovém prostředku a dalších parametrech a je třeba vždy pro konkrétní ovocný druh upravit technologii, aby bylo dosaženo uspokojivých výsledků. Dalším velmi podstatným krokem je chladírenské skladování, kdy minimálně opracované ovoce je dosti citlivé na případné nedodržení chladírenského řetězce.

Pro každou výrobu, ovocný druh a odrůdu je vhodné provádět laboratorní zkoušky použitelnosti dané odrůdy pro minimální opracování. Na obrázcích 2 je ukázka hodnocení rychlosti enzymového hnědnutí jablek za pomoci analýzy obrazu. Na obrázku 3 je znázorněno měření tuhosti dužniny pomocí texturometru Instron.

V tabulce 1 je uveden přehled jednotlivých výrobních kroků spolu s nebezpečím, které zde hrozí, v každém bodě je návrh kritického kontrolního bodu včetně preventivních opatření.



Obr. 1: Obecné schéma výroby minimálně opracovaného ovoce



Obr. 2: Ukázka hodnocení enzymového hnědnutí



Obr.3: Ukázka hodnocení pevnosti

Tabulka 1: Popis řízení jakosti při výrobě minimálně opracovaného ovoce

Výrobní krok	Nebezpečí	Kritický kontrolní bod	Prevence a kontrolní měření
Pěstování plodin	Kontaminace fekálními patogeny	Pěstební technologie	•Používat syntetická hnojiva •Kontrolovat zdroj vody pro závlahu •Používat pesticidy
Sklizeň	Mikrobiální kažení Napadení hmyzem	Hodnocení zralosti produktu	•Sklízet před vrcholnou zralostí produktu
		Šetrná manipulace	•Minimalizovat mechanická poškození
		Kontrola teplot	•Sklizeň brzy ráno nebo v noci
	Křížová kontaminace	Sanitace	•Školení pracovníků základní hygiena
Transport	Růst mikroorganismů	Čas / teplota	•Dodržovat nízkou teplotu
			•Vyhnout se transportu na delší vzdálenosti
	Křížová kontaminace	Způsob nakládání	•Zachovat stálou teplotu v přepravním prostředku
			•Zabránit poškození produktu - nepřepřehňovat přepravní nádoby
Transport		Přepravní nádoby	•Vyloučit poškozené nádoby
			•Používat čisté kovové nebo plastové nádoby
Mytí	Kontaminace z vody	Voda	•Používat pitnou vodu, kontrolovat vodu na přítomnost koliformních bakterií
		Způsob mytí	•Kontrola mikrobiální kontaminace pomocí desinfekce a antioxidační lázně
		Odvod vody	•Nepřepřehňovat myčku
			•Vodu v myčce měnit
			•Odstraňovat odkapávající vodu
Třídění	Křížová kontaminace	Třídící pracovník	•Proškolený pracovník s praxí v třídění
		Osvětlení	•Dostatečné osvětlení
		Dopravník	•Mytí a desinfekce v určitém intervalu
Balení	Růst mikroorganismů	Obalová fólie	•Optimální propustnost
			•Analyzovat složení atmosféry
			•Používat fólie s povrchovou antimikrobiální ochranou
			•Odstraňovat odkapávající vodu z produktu
		Relativní vlhkost a teplota	•Obaly s antikondenzační úpravou •Pravidelná kontrola teplot
Sklad a distribuce	Růst mikroorganismů	Kontrola teplot	•Dodržet chladírenský řetězec
			•Předejít kondenzaci vody dodržováním stálých teplot
		Světlo	•Vzít v úvahu vliv světla na danou komoditu
		Způsob prodeje	•Opatřit obal etiketou s informacemi o podmínkách skladování

Závěr

Z výše uvedeného vyplývá, že výroba MOO je z technologického hlediska poměrně náročná na výrobu a dodržení všech nastavených parametrů v každém výrobním kroku. Výroba klade vysoké nároky na personál ve výrobě a na dodržování teplotního řetězce. Vzhledem k tomu, že ovoce je po minimálním opracování stále živé a metabolizující, je třeba respektovat požadavky plodu, a to zejména při aplikacích modifikované atmosféry. Pro ošetření nakrájeného ovoce proti enzymovému hnědnutí je potřeba aplikovat vhodné antioxidační přípravky a pro stabilizaci textury lze s úspěchem využít vápenaté soli. Přesné složení těchto lázní je individuální dle dané výroby. Balení do modifikované atmosféry umožňuje prodloužit trvanlivost MMO, ale nesmí narušit fyziologii plodu. Pouze správná kombinace předchozích opatření umožní vyrobit kvalitní a bezpečný produkt.

Literatura

Gil M.I.; et al. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions *International Journal of Food Microbiology* 2009, 134, 37–45
 Lamikara O. (ed.), *Fresh-cut Fruit and Vegetables, Science, Technology and market*, CRC Press, Boca Raton, 2002
 Rodrigues S., Fernnades, F.A.N. (ed.), *Advances in Fruit Processing Technologies*, CRC Press, Boca Raton, 2012
 Ohlsson T., Bengtsoon N. (ed.), *Minimal processing technologies in the food industry*, CRC Press, Boca Raton, 2002

Poděkování

Tento projekt byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2013).

P 11**HODNOCENÍ ENZYMOVÉHO HNĚDNUTÍ MINIMÁLNĚ OPRACOVANÉHO OVOCE**

Kovařík F., Vyšínová L., Rajchl A.

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

Enzymové hnědnutí je souhrnný název pro změny probíhající v čerstvém ovoci vedoucí k tvorbě a hromadění hnědých pigmentů. Tyto změny jsou jednou z hlavních příčin snížení kvality minimálně opracovaného ovoce. Jako nejdůležitější enzym zodpovědný za hnědnutí ovoce je považován polyfenol-oxidáza (PPO), (EC. 1.14.18.1), která katalyzuje oxidaci polyfenolů na chinony, jenž následně vytváří barevné pigmenty. Pro hodnocení aktivity PPO byla použita spektrofotometrická metoda za využití několika substrátů. Tato metoda byla validována a výsledky získané touto metodou byly korelovány s obsahem celkových fenolických látek stanovených pomocí Folin-Ciocalteova činidla, vybranými fenolickými látkami stanovenými pomocí HPLC a metodou analýzy obrazu. Získaná data byla statisticky vyhodnocena a na jejich základě byl navržen postup při predikci barevných změn ovoce během jeho zpracování a skladování.

V současnosti se na stanovení aktivity polyfenoloxidázy používá několik metod. Nejčastěji používanou metodou je metoda spektrofotometrická, popsaná v práci Rocha a Morais, při které je nutné enzym z matrice extrahovat za definovaných podmínek. (Rocha a Morais 2001). Účinnost této extrakce je závislá na mnoha parametrech, jako je teplota, čas, aj. Pro celkové hodnocení pravděpodobného průběhu reakcí enzymového hnědnutí je nutné znát množství přítomných substrátů pro dané reakce. (Rocha a Morais 2001). Pro zjištění množství fenolických látek se nejčastěji používá metody kapalinové chromatografie s UV detekcí. (Mišan Č. a kol. 2011, Zheng a kol. 2001). Pro hodnocení barevných změn se využívá spektrofotometrických metod. Metoda spektrofotometrie je založena na sledování odrazivosti objektu po dopadu paprsků světla. Reflekční spektrofotometry pracují na principu měření pohltivosti nebo odrazivosti světla v celém spektru vlnových délek (UV, viditelná oblast, infračervená oblast). V závislosti na schopnosti pohlcovat nebo odrážet světlo je pomocí spektroskopu určena barva snímaného objektu. Pracujeme zde s různými barevnými prostory jako je RGB a nejčastěji používaný CIELab. (Socaciu 2008).

Materiál a metody

Měření aktivity polyfenoloxidázy

- Spektrofotometrické stanovení aktivity polyfenoloxidázy – změna absorbance při 420 nm

Analýza fenolických sloučenin

- Spektrofotometrické stanovení obsahu celkových polyfenolů pomocí Folin Ciocalteova činidla – absorbance při 750 nm
- Kapalinová chromatografie s UV detekcí – gradientová eluce, A: 0,01M kyselina fosforečná/voda, B: 0,01M kyselina fosforečná/acetonitril, kolona Zorbax Eclipse XDB-C8, 4,6×150 mm, 5-μm. UV detekce 280 nm.

Kvantifikace enzymového hnědnutí pomocí analýzy obrazu

- Analýza obrazu – software NIS-Elements AR 2.3 beta

Výsledky a diskuze

Tab. 1. Výsledky jednotlivých metod. ΔL – změna hodnoty L^* - světlosti. PPO – polyfenoloxidáza. Hodnoty jsou uvedeny od nejnižší po nejvyšší.

		analýza obrazu	HPLC				Folin Ciocalteau	aktivita PPO (spektr.)
odrůda		ΔL	Chlorogenová kys. (mg/kg)	Epikatechin (mg/kg)	Floridzin (mg/kg)	Katechin (mg/kg)	mg gallové / kg	U (g/min)
Red Delicious	od - do	1,14 - 1,7	65 - 102	41 - 75	17 - 23	14 - 28	485 - 1068	1635 - 5700
	průměr	1,14	78,4	58,6	20,6	21,8	710,4	4750
Golden Delicious 1	od - do	0,51 - 1,13	84 - 95	63 - 73	9 - 12	11 - 17	891 - 1000	3729 - 4650
	průměr	0,888	88	67,4	10,2	12,8	947,8	4041
Gloster	od - do	1,12 - 1,72	110 - 193	48 - 60	9 - 14	19 - 35	656 - 833	4710 - 5535
	průměr	1,264	138,2	52,2	12,2	26,4	730,6	5271
Topaz	od - do	0,11 - 0,45	54 - 74	43 - 54	7 - 12	7 - 11	684 - 792	990 - 1815
	průměr	0,312	65	48,6	8,6	9,6	732	1251
Golden Delicious 2	od - do	0,57 - 0,58	63 - 103	48 - 71	7 - 10	8 - 11	447 - 773	1800 - 4050
	průměr	0,576	78,6	54,6	8,4	10	610	3006,4
Idared	od - do	1,15 - 2,89	74 - 163	31 - 61	9 - 15	17 - 26	615 - 698	4500 - 4890
	průměr	1,838	119	44,8	11,6	21	737,4	4772,8

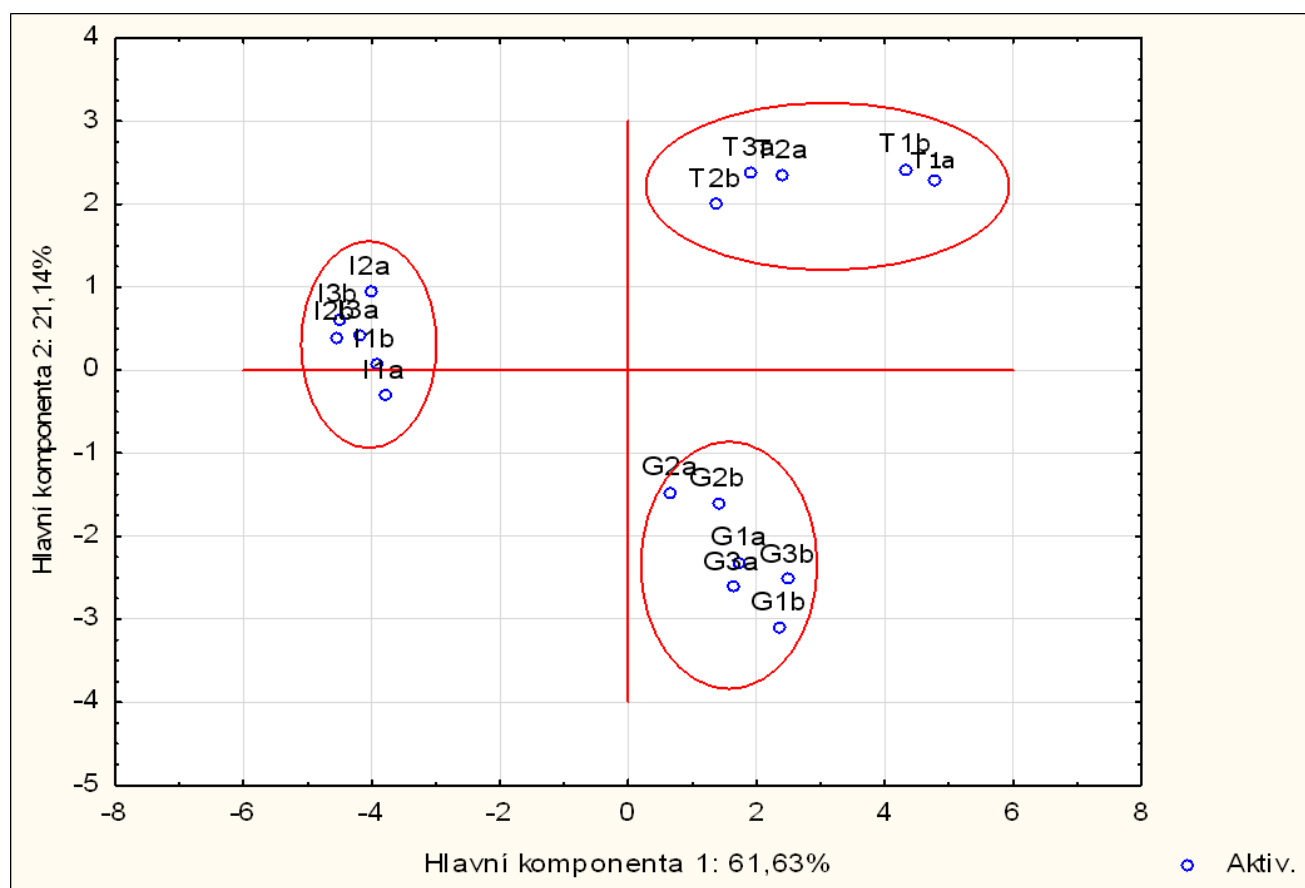
Na základě naměřených dat uvedených v tabulce č. 1. byly všechny metody mezi sebou korelovány. Vzájemné korelace spolu s kritickými korelačními koeficienty jsou uvedeny v tabulce 2.

Tab. 2. Korelace výsledků spektrofotometrického měření aktivity polyfenoloxidázy (U), analýzy obrazu (ΔL) a kapalinové chromatografie (c)

Korelace	R	R _{krit.}	Rovnice regrese
U a ΔL	0,8491	0,8114	$\Delta L = 0,001U - 0,129$
U a obsah chlorogenové kyseliny	0,8994	0,8783	$U = 478,6c - 1022,1$
U a obsah katechinu	0,8532	0,8114	$c = 0,001U + 0,220$
ΔL a obsah katechinu	0,8234	0,8114	$\Delta L = 0,658c - 0,074$

Všechny použité metody mezi sebou korelovaly. A sice čím vyšší hodnota aktivity polyfenoloxidázy, tím více jablka hnědla, což bylo ověřeno analýzou obrazu. Zároveň čím větší byl v jablcích naměřen obsah jednotlivých polyfenolů, které slouží jako substráty, tím rychleji a více jablka hnědla.

Při statistickém zpracování výsledků byly sledovány rozdíly mezi jednotlivými odrůdami na základě naměřených hodnot. Na základě výsledků obsahů jednotlivých polyfenolů stanovených metodou HPLC s UV detekcí byla provedena analýza hlavních komponent. Její výsledky jsou uvedeny na obrázku č. 1.



Obr. č. 1. Výsledky analýzy hlavních komponent. Patrné rozdíly mezi odrůdami Idared (I), Golden Delicious (G) a odrůdou Topaz (T).

Závěr

Při porovnání výsledků z jednotlivých analýz bylo zjištěno, že odrůdy s vysokou aktivitou polyfenoloxidázy (Gloster, Red Delicious, Idared) zároveň zhnědly podle analýzy obrazu za 60 minut po nakrojení více než další dvě odrůdy, a obsahují nejvíce kyseliny chlorogenové a katechinu. Naopak odrůda s nejnižší aktivitou polyfenoloxidázy (Topaz) zhnědla za 60 minut nejméně ze všech odrůd, a obsahuje nejméně kyseliny chlorogenové a katechinu. Podle výsledků Folin-Ciocalteuovy metody nemá celkový obsah fenolů vliv na hnědnutí pletiva. Výsledky měření aktivity polyfenoloxidázy, analýzy obrazu a kapalinové chromatografie byly zpracovány korelační analýzou a bylo zjištěno, že aktivita polyfenoloxidázy koreluje s analýzou obrazu a obsahem katechinu a kyseliny chlorogenové na hladině pravděpodobnosti 95 %.

Použitá literatura

- Mišan, Č. A.; Mimica-Dukić, N. M.; et al. 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* 2011, 9, 133-142.
- Rocha, A. M. C. N.; Morais, A. M. M. B. Characterization of polyphenoloxidase (PPO) extracted from 'Jonagored' apple. *Food control* 2001, 12, 85-90.
- Socaciu, C.; Diehl, H. A. Instruments to analyze food colors. In *Handbook of food analysis instruments*, 1st ed.; Ötles, S., Ed.; CRC Press: USA, 2008; pp 229-243.
- Zheng, W.; Wang, S. Y. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 5165-5170.

Poděkování

Tento projekt byl financován z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2013).

P 12**DEGRADACE GLYCIDYL PALMITÁTU V MODELOVÝCH SYSTÉMECH**

Ilko V., Doležal M., Velíšek J.

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

Souhrn

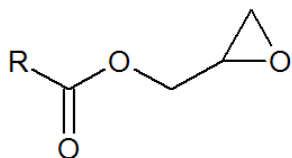
Estery chlorpropanolů a glycidyl estery patří mezi procesní kontaminanty potravin. Tyto kontaminanty se nacházejí v celé řadě potravin, nejvíce však v rafinovaných rostlinných olejích. Kritickým krokem z pohledu jejich tvorby při rafinaci olejů je deodorace, probíhající při vysokých teplotách. Pomocí lipáz *in vivo* může z glycidyl esterů vznikat volný glycidol, který IARC (Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny) zařadila do skupiny 2A (pravděpodobně karcinogenní pro člověka) a podobně mohou hydrolyzovat i estery 3-chlorpropan-1,2-diolu (estery 3-MCPD) za vzniku potenciálních karcinogenů.

Cílem této práce bylo studium rozkladu glycidyl palmitátu v modelových systémech, protože znalost reakčních podmínek může přispět k nalezení vhodného detoxikačního procesu nebo omezení jejich tvorby při zpracování potravinářských surovin i samotných potravin. Závislost rozkladu glycidyl palmitátu byla sledována na teplotě a čase, koncentraci vody a chloridových iontů. Potravinovou matici v modelech nahrazuje vysušený silikagel. Mezi degradační meziprodukty, které vznikaly v přítomnosti chloridových iontů patřily i mono a diestery 3-MCPD. Vyhodnocení modelů bylo prováděno přímo, pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí.

Úvod

V nedávné době byly v rafinovaných olejích a v potravinách, při jejichž výrobě byl použit palmový olej, objeveny estery glycidolu s mastnými kyselinami (**obrázek 1**). Výsledky naznačují, že jejich výskyt v rafinovaných olejích souvisí s vysokým obsahem DAG (Collison, 2010). Estery glycidolu jsou považovány za prekurzory při tvorbě esterů chlorpropanolů, ale tato hypotéza nebyla ještě důkladně ověřena (Hamlet *et al.*, 2011). Předpokládá se, že základní reakce glycidyl esterů, jako jejich tvorba a rozklad, jsou analogické k reakcím glycidolu.

Modely rozkladů esterů 3-MCPD, které mají simulovat rozkladné reakce probíhající v potravinové matici byly dosud popsány u 3-MCPD dipalmitinu a 3-MCPD monopalmitinu (Ilko, Doležal, 2013). Byla zkoumána závislost rozkladu procesních kontaminantů na čase a teplotě. Následně byly ze zjištěných hodnot vypočteny rychlostní konstanty rozkladu. Pro 3-MCPD dipalmitát byla zjištěna rychlostní konstanta rozkladu při 200 °C $k=(3,51\pm0,27)\cdot10^{-4} \text{ s}^{-1}$ a pro 3-MCPD monopalmitát $k=(3,06\pm0,32)\cdot10^{-4} \text{ s}^{-1}$.

**Obr. 1:** Struktura esterů glycidolu

Experimentální část

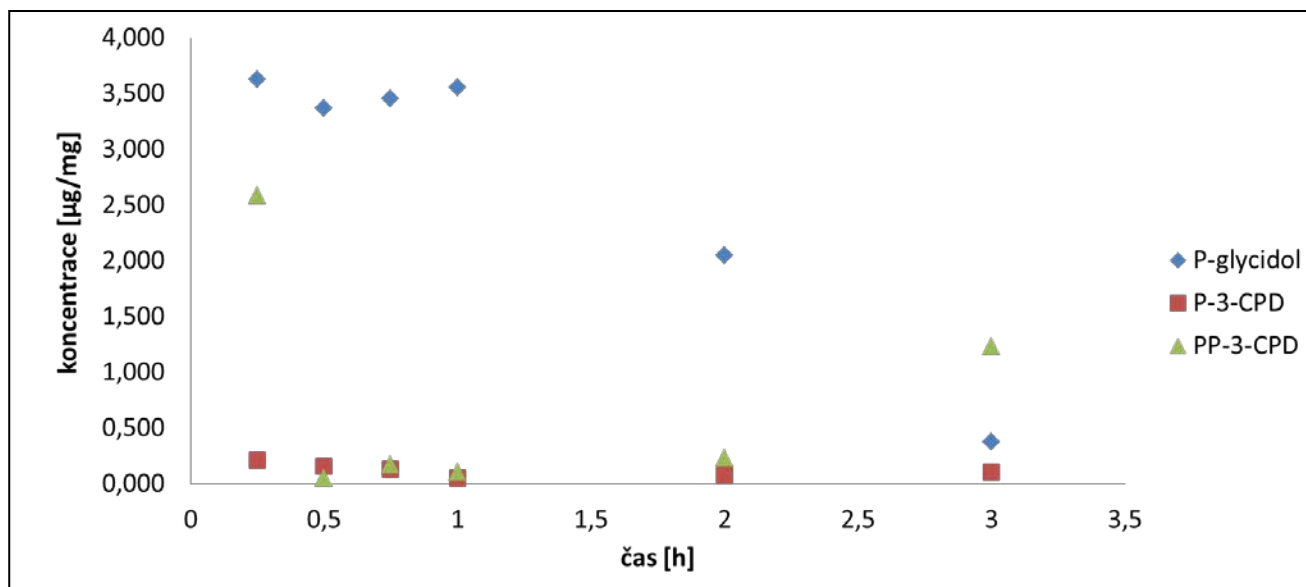
Experimentální část spočívala v analýze připravených modelových systémů. Závislost rozkladu glycidyl palmitátu (P-glycidol) se zkoumala na čase (15 min, 30 min, 45 min, 1h, 2h, 3h) a teplotě (110 °C až 260 °C po 30 °C). Na začátku analýzy byl kvantitativně navážen glycidyl palmitát do ampule se silikagelem. Silikagel simuluje v těchto pokusech inertní potravinovou matici. Glycidyl palmitátu bylo přidáno ve všech pokusech takové množství, aby jeho podíl byl 10 %. Následně do ampule byl přidán tetrabutylamoniumchlorid jako zdroj chloridových iontů. Po odpaření rozpouštědel byla přidána voda a následně celá ampule zatavena a dána do termostatu na předem nastavenou teplotu a čas. Po vychladnutí byla ampule rozlomena, obsah převeden do srdcové baňky a přidány deuterované vnitřní standardy sledovaných analytů: P-glycidol-d₅, 1-palmitoyl-3-MCPD (P-3-MCPD-d₅) a 1,2-dipalmitoyl-3-MCPD (PP-3-MCPD-d₅). Následně byly analyty extrahovány několikanásobnou sonifikací a filtrací do předem zvážené srdcové baňky. Následně bylo rozpouštědlo odpařeno a zbytek po odpaření zvážen. Po odvážení byl do srdcové baňky přidán THF a část byla odebrána na analýzu pomocí GC/MS. U každé modelové směsi byla provedena dvě paralelní stanovení

Pro stanovení analytů byl použit plynový chromatograf Agilent 7820A (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) s kvadrupólovým hmotnostním detektorem Agilent 5975 a kapilární kolonou DB-1HT (15 m x 250 µm x 0,1 µm, Agilent, J&W GC columns, Agilent Technologies, USA). Nastříkovan byl 1 µl 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 pro P-glycidol a 1-palmitoyl-3-MCPD, (2 group – od 15 min) 239, 331, 333, 336, 338 v případě stanovení 1,2-dipalmitoyl-3-MCPD.

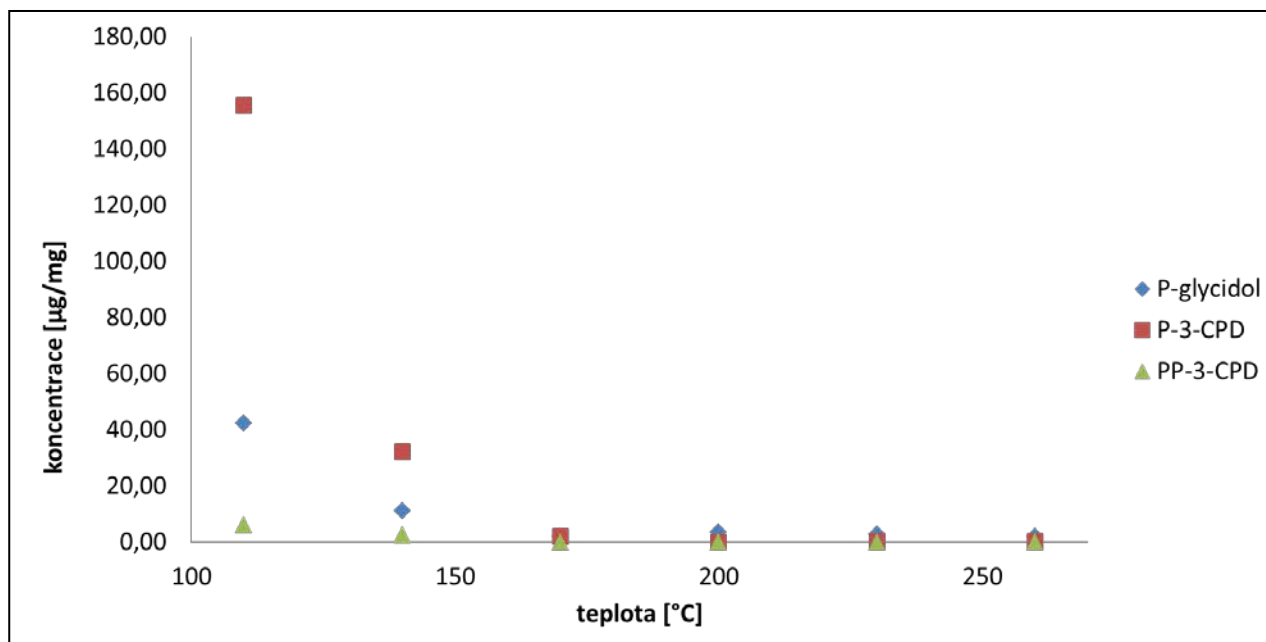
Výsledky a diskuse

První část experimentu byla zaměřena na sledování rozkladu glycidyl palmitátu při 200 °C. Obsah chloridů a vody byl ve všech pokusech konstantní, a to 0,5 % hm. Směs byla zahřívána po dobu 15 min, 30 min, 45 min, 1h, 2h a 3h. Na **obrázku 2** je vidět, že už v 15 minutě docházelo k velmi rychlému rozkladu glycidyl palmitátu. Z počáteční hodnoty 200 µg/mg směsi poklesla koncentrace na 3,8 µg/mg. Při rozkladu 3-MCPD dipalmitátu za stejných podmínek došlo po 15 minutách k poklesu na 152 µg/kg (Ilko, Doležal, 2013).

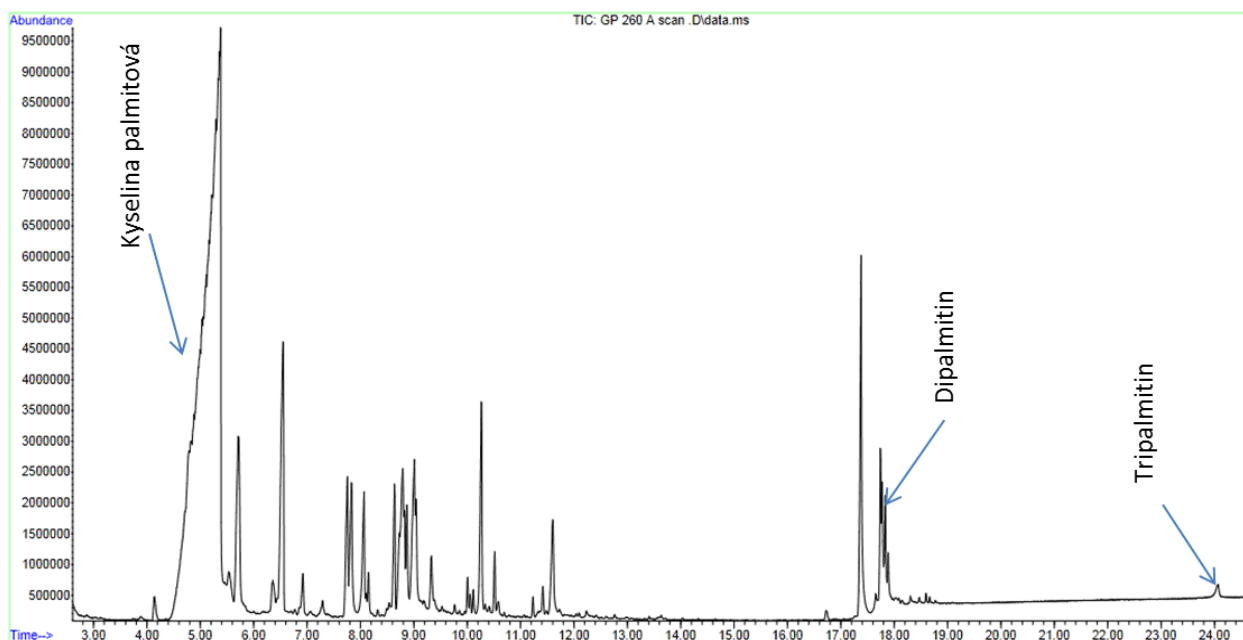


Obr.2 : Závislost rozkladu glycidyl palmitátu na čase (200 °C, 0,5 % hm. chloridových iontů, 0,5 % hm. vody)

V druhé části experimentu byla sledována závislost rozkladu glycidyl palmitátu na teplotě (110 °C, 140 °C, 170 °C, 200 °C, 230 °C a 260 °C). Čas zahřívání modelové směsi byl 1 h, obsah chloridů a vody byl ve všech pokusech konstantní, a to 0,5%. Jak je vidět na **obrázku 3**, k nejmenšímu rozkladu docházelo při teplotě 110 °C. Od 170 °C byl glycidyl palmitát zcela degradován. Podle těchto poznatků se dá předpokládat, že i v potravinách mohou při tepelných úpravách nad 170 °C tyto degradační reakce hrát významnou roli. Hlavním produktem rozkladu glycidyl palmitátu byla kyselina palmitová, jak ukazuje i chromatogram modelové směsi po zahřátí na 260 °C (**obrázek 4**).



Obr. 3: Závislost teploty na rozklade glycidyl palmitátu. (1h, 0,5% chloridů, 0,5% vody)



Obr. 4: Chromatogram v SCAN módu modelové směsi (260°C, 1 h)

Závěr

Při zkoumání závislosti rozkladu glycidyl palmitátu na čase bylo zjištěno, že při teplotě 200 °C v přítomnosti chloridových iontů dochází k velmi rychlému rozkladu. Do 15 minut ubylo 98 % reaktantu. Při záhřevu na teplotu 110 °C docházelo k adici chloridového iontu do oxiranového kruhu glycidyl palmitátu za vzniku 3-MCPD monopalmitátu. Při teplotách 170 °C a vyšších docházelo k celkovému rozkladu glycidyl palmitátu, přičemž hlavním produktem reakce byla palmitová kyselina.

Poděkování

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

Literatura

Collison, M.W., Direct determination of MCPD esters and glycidyl esters LC MS. Berlin: OVID-Association of the oil seed crushing and oil refining Industry in Germany, 2010. Available at: http://www.ovid-verband.de/fileadmin/user_upload/ovid-verband.de/downloads/ADM_Collison.pdf [accessed September 2010]

Hamlet C.G., Asuncion L., Velíšek J., Doležal M., Zelinková Z., Crews C.: Formation and occurrence of esters of 3-chloropropane-1,2-diol (3-CPD) in foods: What we know and what we assume. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 113, 279-303 (2011)

Ilko V., Doležal M.: Rozklad esterů 3-MCPD v modelových systémech. Sborník přednášek z 51. Mezinárodní konference o olejích a tucích, Hrotovice, 34-37, 2013

P 13**JEDNODUCHÝ EXTRAČNÍ POSTUP PRO STANOVENÍ SPEKTRA MASTNÝCH KYSELIN VE SVALOVÉM TUKU**

Chvalová D., Špička J.

Katedra aplikované chemie, ZF JU České Budějovice, Studentská 13, 370 05 České Budějovice

Úvod

Mastné kyseliny jsou důležité pro řadu fyziologických a biochemických procesů v živém organismu. Z chemického hlediska se nejčastěji jedná o monokarboxylové kyseliny s přímým řetězcem a sudým počtem uhlíkových atomů, nasycené či obsahující různý počet dvojných vazeb. Podle počtu dvojných vazeb se dělí na kyseliny nasycené, mononenasycené a polynenasycené. Tyto se dále rozdělují podle polohy první dvojné vazby v řetězci do dvou sérií označovaných jako n-3 a n-6 (resp. omega-3 a omega-6). Dvě mastné kyseliny jsou pro člověka esenciální – linolová (18:2n-6) a α -linolenová (18:3n-3). Jejich přeměnou v organismu vznikají vysoce nenasycené mastné kyseliny se 20 či 22 atomy uhlíku a čtyřmi až šesti dvojnými vazbami. Jsou to zejména kyseliny arachidonová (20:4n-6), eikosapentaenová (20:5n-3) a dokosahexaenová (22:6n-3), které jsou důležitými složkami buněčných membrán a prekursory mnoha dalších sloučenin v lidském těle.

Pro zdravý a normální vývoj organismu je důležitý vyrovnaný příjem n-3 a n-6 vysoce nenasycených mastných kyselin. Ve stravě tzv. západního stylu výživy však převládají mastné kyseliny řady n-6, což může způsobovat různé chronické obtíže (Simopoulos, 2010). Naproti tomu u vysoce nenasycených mastných kyselin řady n-3 eikosapentaenové a dokosahexaenové byly potvrzeny zdravotně příznivé či dokonce léčebné účinky (Kris-Etherton *et al.*, 2002; Gogus *et al.*, 2010). Jelikož jejich biosyntéza probíhá v lidském organismu jen v omezené míře (Arts *et al.*, 2001), řadí se mezi tzv. podmíněně esenciální mastné kyseliny a je důležité je přijímat v potravě. Jejich významným zdrojem jsou ryby. Výživově sledovaný poměr n-3/n-6 mastných kyselin se u mořských ryb pohybuje v rozmezí 5-10, u sladkovodních 0,5-4 (Steffens *et al.*, 1997). Sladkovodní ryby však na rozdíl od mořských mají schopnost biosyntézy vysoce nenasycených mastných kyselin (Tocher, 2003) a složení lipidů u ryb chovaných v akvakultuře tak lze účinně ovlivnit použitým krmivem.

Cílem naší práce byla analýza mastných kyselin ve svalovině sladkovodních ryb. Jedná se o matici s vysokým obsahem neutrálních lipidů. Testovali jsme vhodnost různých organických rozpouštědel pro extrakci lipidů z tohoto typu vzorku a vliv použitého extrakčního činidla na výsledné spektrum mastných kyselin.

Experimentální část

Biologický materiál: Svalovina kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*)

Extrakce lipidů: Lipidy byly extrahovány ze 2 g lyofilizovaného vzorku 22 ml příslušného extrakčního činidla při 4 °C, 24 hodin. Použitá činidla: (A) petrolether, (B) CHCl₃, (C) směs CHCl₃-MeOH 2:1, (D) vzorek zvlhčen a extrahován dle Folcha (Folch *et al.*, 1957; Iverson *et al.*, 2001). Po filtraci byl extrakt odpařen pod proudem dusíku do konstantní hmotnosti a uchován při -20 °C.

Chromatografie na tenké vrstvě (TLC) a separace do tříd lipidů: 20 mg lipidu bylo rozpuštěno v chloroformu a nanášeno na skleněnou desku pokrytou silikagelem (20x20 cm, 0,5 mm, SIL G-50, Macherey-Nagel). Deska byla vyvíjena v mobilní fázi o složení hexan-diethylether-kyselina mravenčí v poměru 60 : 40 : 2 a vizualizovaná postřikem 0,1 % roztoku 2',7'-dichlorofluoresceinu v 95% methanolu. Po vysušení desky byly jednotlivé třídy lipidů vizualizovány při vlnových délkách 254 a 365 nm a jejich retenční faktory porovnány se současně analyzovanými standardy. K vyškrabaným zónám byl přidán roztok vnitřního standardu (methyl-ester heneikosanové kyseliny) podle přibližného množství lipidové frakce. Jednotlivé třídy byly ze silikagelu uvolněny

extrakcí chloroformem, pro polární lipidy byl použit chloroform s přidavkem methanolu 1:1. Po odpaření rozpouštědla byly vzorky naředěny petroletherem (polární lipidy s přidavkem dichlormethanu) na přibližnou koncentraci 2 mg lipidů/ml.

Příprava methyl-esterů mastných kyselin (FAME) a jejich stanovení: Pro přípravu FAME volných mastných kyselin byla použita kyselá derivatizace 1M HCl v methanolu. Reakční směs byla inkubována 15 min při 70 °C, ochlazena, naředěna petroletherem a zbytek HCl neutralizován přidavkem Na₂CO₃. V ostatních případech byla použita bazická derivatizace pomocí 2M KOH v methanolu. Reakční směs byla inkubována 2 min při 60 °C, ochlazena, neutralizována 1M HCl v methanolu a naředěna petroletherem na koncentraci vhodnou pro GC analýzu.

Připravené FAME byly analyzovány na plynovém chromatografu (Varian 3800GC/4000MS, USA) s detektorem FID: Na kapilární kolonu Varian CP 7419 byl dávkován 1 µl vzorku se splitem 10. Teplotní program byl 170 °C – 210 °C, s gradientem 2 °C/min. Průtok nosného plynu helia byl nastaven na 1,8 ml/min. Teplota injektoru a detektoru byla 250 °C. Jednotlivé mastné kyseliny byly identifikovány porovnáním se směsí standardů (Supelco) a s příslušnými hmotnostními spektry získanými při chemické ionizaci acetonitrilem.

Výsledky a diskuse

K extrakci lipidů ze svaloviny kapra obecného a pstruha duhového byla použita čtyři různá extrakční činidla. Získané lipidové extrakty byly rozděleny chromatografií na tenké vrstvě do jednotlivých frakcí (lipidových tříd). V lipidech kapra obecného byly nalezeny tři frakce – polární lipidy, diacylglyceroly a triacylglyceroly, u pstruha duhového se kromě předchozích frakcí objevila ještě frakce volných mastných kyselin. Její přítomnost může mít souvislost s uložením vzorku, kdy mohlo dojít k částečné hydrolýze lipidů. Zastoupení lipidových frakcí při použití různých extrakčních činidel je uvedeno v tabulce 1.

Různá extrakční činidla poskytla lipidové extrakty obsahující stejné frakce s mírně odlišným procentickým zastoupením. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl ($\alpha=0,05$) mezi lipidy vyextrahovanými činidly bez (A, B) a s přidavkem (C, D) methanolu pro třídu PL. Přítomnost polárního rozpouštědla se tak projevila zvýšeným obsahem polárních lipidů. Ve všech lipidových extraktech však převládá frakce nepochopitelných triacylglycerolů, která činí ve svalovině kapra více než 97 % a svalovině pstruha více než 88 % celkového lipidu. Zastoupení ostatních frakcí se pohybuje v jednotkách procent a jejich příspěvek k celkovému spektru mastných kyselin je tak minimální.

Tab. 1 Celkový obsah VMK v lipidových frakcích (% hmot.) (n = 3)

Lipidová frakce	Extrakční činidlo							
	(A) Petrolether		(B) CHCl ₃		(C) CHCl ₃ -MeOH		(D) dle Folcha	
	kapr	pstruh	kapr	pstruh	kapr	pstruh	kapr	pstruh
PL	0,7	2,3	1,2	2,1	2,6	4,1	1,8	3,9
DAG	0,6	3,6	0,7	3,0	0,7	3,6	0,7	3,2
FFA	-	4,1	-	4,8	-	4,2	-	4,5
TAG	98,7	90,0	98,1	90,2	96,7	88,1	97,5	90,1

VMK = vyšší mastné kyseliny, PL = polární lipidy, DAG = diacylglyceroly, FFA = volné mastné kyseliny, TAG = triacylglyceroly

V tabulce 2a (pstruh duhový) a 2b (kapr obecný) je uvedeno spektrum vyšších mastných kyselin (VMK) v triacylglycerolových (TAG) frakcích získaných extrakcí vzorků testovanými extrakčními činidly. Mastné kyseliny byly převedeny na methyl-estery a analyzovány na plynovém chromatografu s FID detekcí. Ve svalovině kapra i pstruha bylo identifikováno více než 40 mastných kyselin. Do dalšího zpracování byly zahrnuty mastné kyseliny s obsahem vyšším než 0,1 %. Mastné kyseliny v jednotlivých TAG frakcích byly mezi sebou vzájemně porovnány. Z naměřených dat (12 hodnot pro danou kyselinu) bylo určeno variační rozpětí a maximální odchylka od průměru. Ta dosahuje hodnoty do 5 % pro mastné kyseliny se zastoupením vyšším než

1 % a do 10 % pro mastné kyseliny se zastoupením 0,1 – 1 %. Vzhledem k chybě analytického stanovení, která se běžně pohybuje v jednotkách procent, je možné konstatovat, že jednotlivé TAG frakce se od sebe neliší. Při porovnání zastoupení mastných kyselin v petroletherovém extraktu celkového lipidu a v TAG frakcích experimentální hodnoty nevybočovaly z příslušného variačního rozpětí. K celkovému spektru mastných kyselin tedy přispívají kyseliny z převažující triacylglycerolové frakce, příspěvek mastných kyselin z ostatních frakcí je menší než běžná chyba analytického stanovení.

Získané výsledky naznačují, že pro matrice s převahou nepolárních lipidů (např. svalovina ryb) je extrakce petroletherem z hlediska přesnosti stanovení vyhovující. Složitější extrakční postupy lze nahradit jednoduchou, rychlou a k analytům šetrnou extrakcí petroletherem a spektrum mastných kyselin stanovit přímo v celkovém lipidu extrahovaném tímto rozpouštědlem.

Tab. 2a Svalovina pstruha duhového. Zastoupení VMK (% z celkových MK) v TAG frakcích a v PE extraktu celkového lipidu (n = 3)

VMK	Frakce TAG					Variační rozpětí	PE-0
	PE	CHCl ₃	CHCl ₃ MeOH	Folch	průměr		
C14:0	3,03	3,02	2,98	2,89	2,98	0,22	3,10
C15:0	0,24	0,24	0,24	0,23	0,24	0,02	0,25
C16:0	12,69	12,52	12,46	12,35	12,50	0,84	13,02
C16:1	0,25	0,24	0,24	0,24	0,24	0,02	0,25
C16:1n-7	4,12	4,13	4,27	4,23	4,19	0,32	4,36
C17:0	0,20	0,21	0,19	0,20	0,20	0,03	0,20
C16:2	0,25	0,26	0,24	0,24	0,25	0,03	0,25
C17:1	0,27	0,29	0,29	0,27	0,28	0,03	0,28
C18:0	2,75	2,79	2,71	2,89	2,79	0,30	2,76
C18:1n-9	37,09	36,85	36,95	36,97	36,97	1,28	36,10
C18:1n-7	3,47	3,46	3,45	3,46	3,46	0,20	3,32
C18:1x	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,01	0,20
C18:2n-6	11,81	12,00	11,65	11,56	11,76	0,80	11,33
C18:2a	0,19	0,18	0,17	0,18	0,18	0,03	0,18
C18:3n-3	3,21	3,27	3,19	3,13	3,20	0,21	3,13
C20:0	0,25	0,26	0,26	0,27	0,26	0,04	0,25
C18:4	0,98	1,00	1,03	1,02	1,01	0,12	0,98
C20:1n-9	3,92	3,94	4,01	3,97	3,96	0,18	3,85
C20:1x	0,18	0,19	0,20	0,21	0,20	0,04	0,19
C20:2n-6	0,63	0,62	0,67	0,69	0,65	0,13	0,61
C20:3n-6	0,22	0,21	0,23	0,22	0,22	0,02	0,22
C20:4n-6	0,24	0,24	0,24	0,23	0,24	0,02	0,26
C20:3n-3	0,19	0,19	0,20	0,20	0,19	0,04	0,18
C22:1n-9	2,89	2,91	3,11	3,12	3,01	0,32	2,96
C22:1n-7	0,44	0,44	0,51	0,55	0,49	0,13	0,45
C20:5n-3	1,96	2,08	1,99	2,00	2,00	0,39	2,05
C22:4n-1	0,36	0,35	0,39	0,41	0,38	0,08	0,39
C22:5n-3	0,73	0,75	0,77	0,76	0,75	0,05	0,78
C22:6n-3	4,87	4,91	5,05	5,00	4,96	0,49	5,31

Uvedeny pouze VMK se zastoupením > 0,2 %

VMK = vyšší mastné kyseliny, PE = petrolether, TAG = triacylglyceroly, PE-0 = celkový lipid extrahovaný PE

Tab. 2b Svalovina kapra obecného. Zastoupení VMK (% z celkových MK) v TAG frakcích a v PE extraktu celkového lipidu (n = 3)

VMK	Frakce TAG					Variační rozpětí	PE-0
	PE	CHCl ₃	CHCl ₃ MeOH	Folch	průměr		
C14:0	0,90	0,90	0,93	0,90	0,91	0,10	0,95
C16:0	19,69	19,91	19,85	20,03	19,87	1,22	20,19
C16:1n-7	10,63	10,46	10,88	10,56	10,63	1,09	10,91
C18:0	5,53	5,83	5,55	5,82	5,68	0,54	5,50
C18:1n-9	45,64	45,46	45,15	45,45	45,43	1,21	44,96
C18:1n-7	3,29	3,33	3,30	3,28	3,30	0,16	3,25
C18:2n-6	5,53	5,65	5,66	5,55	5,60	0,40	5,46
C18:3n-3	0,80	0,76	0,77	0,76	0,77	0,10	0,77
C20:1n-11	0,68	0,65	0,64	0,64	0,65	0,10	0,63
C20:1n-9	2,06	2,04	1,99	2,03	2,03	0,17	1,97
C20:2n-6	0,24	0,25	0,24	0,24	0,24	0,06	0,21
C20:3a	0,50	0,49	0,49	0,48	0,49	0,08	0,50
C20:3 n-6	0,19	0,19	0,19	0,18	0,19	0,02	0,18
C20:4 n-6	0,42	0,40	0,42	0,39	0,41	0,09	0,46
C20:5n-3	0,37	0,35	0,37	0,35	0,36	0,10	0,37
C22:6n-3	0,31	0,28	0,32	0,27	0,30	0,10	0,36

Uvedeny pouze VMK se zastoupením > 0,2 %

VMK = vyšší mastné kyseliny, PE = petrolether, TAG = triacylglyceroly, PE-0 = celkový lipid extrahovaný PE

Závěr:

Pro extrakci lipidů ze svaloviny sladkovodních ryb byla testována čtyři různá extrakční činidla: petrolether, chloroform, směs chloroform-methanol a postup dle Folcha.

Ve svalovině kapra obecného byly zjištěny tři třídy lipidů (polární lipidy, diacylglyceroly a triacylglyceroly), ve svalovině pstruha duhového čtyři třídy (polární lipidy, diacylglyceroly, volné mastné kyseliny a triacylglyceroly). Ve všech extraktech převažovaly nepolární triacylglyceroly (u kapra > 97 %, u pstruha > 88 %). Přítomnost methanolu v extrakčním činidle se projevila jen u třídy polárních lipidů.

Zastoupení vyšších mastných kyselin v jednotlivých triacylglycerolových frakcích a petroletherovém extraktu celkového lipidu se v rámci běžné chyby analytického stanovení nelišilo.

Petrolether je vhodný pro extrakci lipidů z matric kde převažují neutrální lipidy. Postup extrakce je rychlý, levný, šetrný k analytům a poskytne výsledky srovnatelné se složitějšími a časově náročnějšími postupy.

Literatura

- Ackman R.G., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **104**, 253-254 (2002).
 Arts M.T., Ackman R.G., Holub B.J., *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **58**, 122-137 (2001).
 Folch J., Lees M., Stanley G.H.S., *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509 (1957).
 Gogus U., Smith C., *Int. J. Food Sci. Tech.*, **45**, 417-436 (2010).
 Iverson S.J., Lang S.L.C., Cooper M.H., *Lipids*, **36**, 1283-1287 (2001).
 Kolanowski W., Laufenberg G., *Eur. Food Res. Technol.*, **222**, 472-477 (2006).
 Kris-Etherton P.M., Harris W.S., Appel L.J., *Circulation*, **106**, 2747-2757 (2002).
 Simopoulos A.P., *Exp. Biol. Med.*, **235**, 785-795 (2010).
 Steffens W., *Aquaculture*, **151**, 97-119 (1997).
 Tocher D.R., *Rev. Fish. Sci.*, **11**, 107-184 (2003).

P 14**VŘESOVÁ OVCE – NOVÝ ZDROJ MASA**Rohlík B.¹, Škorpilová T.¹, Pipek P.¹, Fantová M.², Nohejlová L.², Chodová D.²¹ Ústav konzervace potravin, VŠCHT v Praze, Technická 5, 166 28, Praha 6 - Dejvice² Katedra speciální zootechniky, ČZU, Kamýcká 129. 165 21 Praha 6**Abstrakt**

Plemenem ovčí, jehož chov se rozšiřuje, je vřesová ovce, původem ze severovýchodních oblastí Německa. Jde o skromné plemeno chované na chudých, písčitých půdách vřesovišť. Na pastvě zužitkují i méně hodnotné rostliny, a lze je tak perspektivně využít i k řízené pastvě v chráněných oblastech. Je to pozdní plemeno menšího tělesného rámce, jehož předností je dobrá kvalita masa s chutí zvěřiny a nízkým výskytem loje. Charakteristickou chutí mladého jehněčího masa si udrží až do věku 12-14 měsíců. Proto byla hodnocena kvalita masa vřesové ovce: barva, textura, hmotnostní ztráty ve srovnání s masným plemenem Texel. Barva byla měřena reflexní spektrofotometrií; vřesová ovce se ukazuje tmavší než Texel. Textura masa byla hodnocena na základě Warner-Bratzlerovy síly a max. energie ve stříhu, maso vřesové ovce bylo křehčí. Nebyly nalezeny rozdíly v hmotnostních ztrátách při tepelném opracování. Na základě naměřených hodnot se ukazují vřesové ovce vhodné pro produkci kvalitního jehněčího masa

Úvod

Chov ovčí nemíval u nás velkou tradici, nicméně zájem o dobré jehněčí maso roste a rozšiřuje se i chov plemen ovčí vhodných na maso. Vedle známých masných plemen charollais, texel a suffolk se rozšiřuje chov vřesové ovce.

Ovce vřesová je extenzivní plemeno malého tělesného rámce, které pochází ze severních oblastí Německa a Polska. Vzhled ovce je charakterizován černými končetinami a dlouhou černou hlavou, které nejsou pokryty vlnou, a dozadu zatočenými rohy, u beranů se šnekovitě vinou do strany. Splývané šedé rouno se skládá ze smíšené hrubé vlny s jemnou podsadou. Jehňata mají černou kadeřavou vlnu, po prvním stříhání, okolo jednoho roku, se barva ovčí mění na ocelově šedou s černou náprsenkou. Berani váží i více než 80 kg, bahnice průměrně okolo 45 kg a mají rohy kratší, srpovitě zahnuté. Ovce vřesová je pozdní plemeno a k říji dochází zhruba od konce října do poloviny prosince.

Ovce vřesová je plemeno s minimálními nároky na krmivo a s vysokou odolností proti povětrnostním podmínkám. V ČR se chová od roku 2002, v současnosti dosahují bahnice plodnosti 146 %, denní přírůstky jehňat v odchovu jsou 245 gramů. Pro svou tvrdost a nenáročnost jsou ovce vřesové vhodné k údržbě i zatrávněných ploch horší kvality. V Krkonoších pomáhají výpasem likvidovat intenzivně se rozšiřující šťovík alpský a starček. Díky bylinkové a kořenité stravě je jejich maso tmavé, libové, jemné, bez tuku a aromaticky připomíná zvěřinu. Charakteristickou chutí mladého jehněčího si udrží až do věku 12 až 14 měsíců.



Texel je významné světové masné plemeno vyšlechtěné v Holandsku. Třetí nejrozšířenější masné plemeno v ČR. Je chován ve dvou užitkových typech - holandský s výrazným osvalením, menším tělesným rámcem a francouzský s větším tělesným rámcem. Není vhodný do horských oblastí, je náročný na výživu a kvalitu zimního ustájení. Plemeno je vhodné pro oplůtkový systém chovu.

Vlna je bílá, lesklá, pravidelně obloučkovaná, roční stříž 4 – 6 kg. Plodnost 140 - 160 %, hmotnost bahnic 70 - 80 kg, beranů 115 – 130 kg. Denní přírůstek ve výkrmu dosahuje 300 - 350 g.

Metody měření

Cílem studie bylo srovnat kvalitu masa dvou zmíněných plemen, tedy vřesové ovce a texela a sledovat i rozdíly mezi oběma pohlavími (beránci a jehničky). Byla sledována barva masa, jeho textura i ztráty při tepelném opracování.

Barva byla měřena pomocí reflexní spektrofotometrie (spektrofotometr Minolta CM2600d) a vypočteny hodnoty systému CIELab, byly tedy získány hodnoty světlosti L^* a barevných souřadnic a^* a b^* .

Textura masa byla hodnocena na základě Warner-Bratzlerovy síly ve stříhu a maximální práce pro přestřížení. Tyto veličiny byly hodnoceny pomocí přístroje Instron 3342 (Instron USA), k vyhodnocení byl využit software Bluehill.

Hmotnostní ztráty při tepelném opracování byly zjišťovány jako podíl vývaru (uvolněné tekutiny) z původní hmotnosti masa před zahřevem. Vzorky hřbetu byly v uzavíratelných plastových sáčcích zahřívány ve vodní lázni o teplotě 80 °C po dobu 1 hodiny.



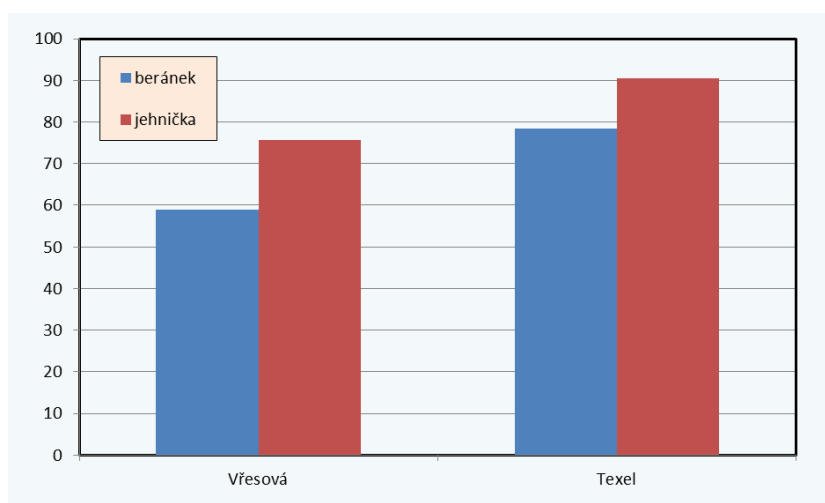
Výsledky a diskuse

Při srovnání naměřených hodnot byly nalezeny rozdíly jak mezi plemeny, tak i mezi oběma pohlavími. S výjimkou barvy jsou naměřené hodnoty uvedeny v tabulce I a na třech grafech.

Měření barvy neposkytlo jednoznačné výsledky; velký rozptyl hodnot byl způsobený dalšími vlivy, které nebylo možné při omezeném množství jednotlivých vzorků prozatím odstranit. Ukazuje se, že maso vřesové ovce bylo tmavší, přičemž není zatím jasné, zda jde o rozdíly v obsahu hemových barviv či v pH a vazbě vody.

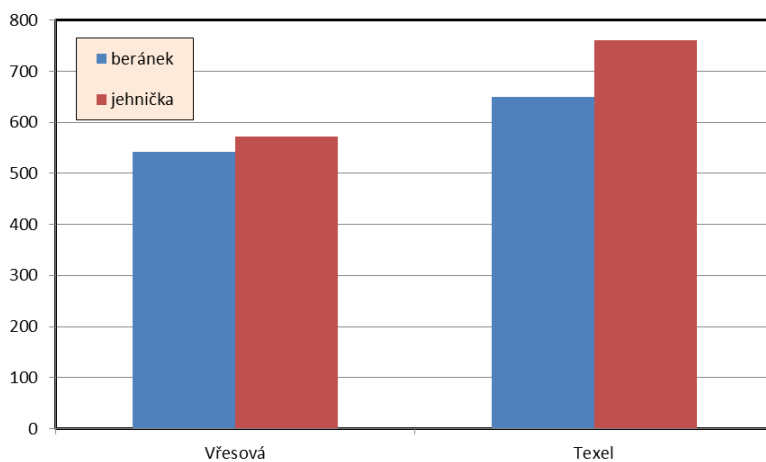
Textura hodnocená jak na základě Warner-Bratzlerovy síly ve stříhu (viz obr. 1) tak podle maximální práce potřebné k přestřížení (viz obr. 2) byla křehčí u vřesové ovce, a to u obou pohlaví. Beránci měli maso křehčí než jehničky, jak u plemene texel, tak i u vřesové ovce. Přitom jehnička vřesové ovce měla křehčí maso než u obou pohlaví texela, tedy jak beránků, tak i jehniček.

Plemeno	Pohlaví	$F_{\max}$ [N]	Energie max (mJ)
Vřesová	beránek	59,00 ± 24,01	541,53 ± 243,07
	jehnička	75,61 ± 31,64	572,57 ± 236,41
Texel	beránek	78,51 ± 25,69	649,40 ± 224,54
	jehnička	90,43 ± 20,11	760,70 ± 151,44

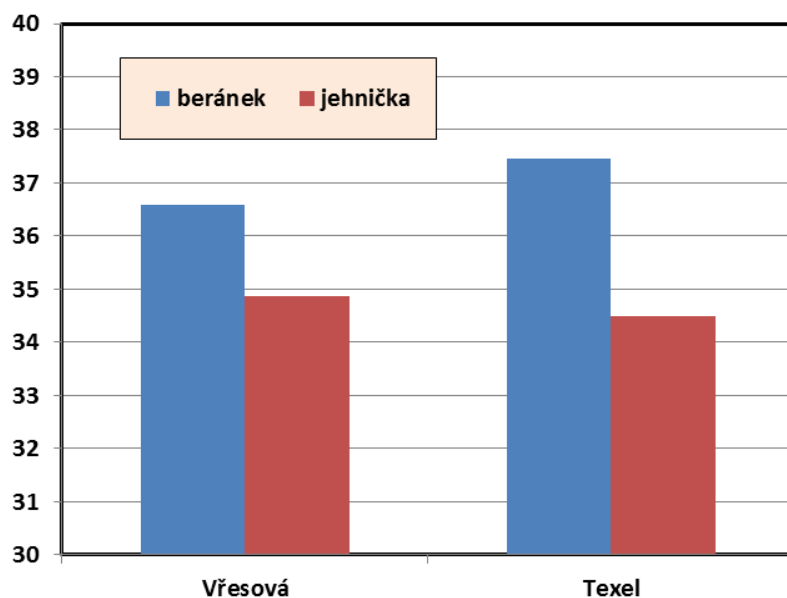
Tabulka I: Srovnání naměřených dat textury pro jehničky i beránky obou plemen ovčí.

Obr. 1. Maximální síla ve střihu [N] – srovnání obou plemen a pohlaví

Hmotnostní ztráty při tepelném opracování se významně nelišily mezi oběma plemeny, rozdíly byly menší než 1 %. Naopak byl pozorován velký rozdíl z hlediska hmotnostních ztrát mezi jehničkami a beránky, a to u obou pohlaví. Výrazně nižší ztráty byly pozorovány u jehniček.



Obr. 2. Maximální energie ve střihu [mJ] – srovnání obou plemen a pohlaví



Obr. 3: Hmotnostní ztráty [%] - srovnání obou plemen a pohlaví

Závěr

Vřesová ovce je tedy perspektivním plemenem pro produkci kvalitního jehněčího masa, výhodou je, že může žít i v drsnějších klimatických podmínkách. Kvalita masa vřesových ovcí byla srovnána s rozšířeným masným plemenem Texel prozatím jen na omezeném počtu jedinců, měření však dále pokračuje.

Studie se uskutečnila za podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (S grant)

P 15**ODLIŠENÍ ČERSTVÉHO KUŘECÍHO MASA OD ROZMRAŽENÉHO POMOCÍ AKONITÁZY**

Škorpilová T., Šimoniová A., Rohlík B-A., Pipek P.

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

Abstrakt

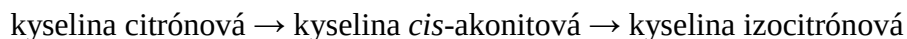
Krystalky ledu, které vznikají v průběhu zmrazení masa, poškozují buněčné membrány a buněčné organely, které v důsledku toho uvolňují mitochondriální enzymy do sarkoplasmatu. Přítomnost těchto enzymů v sarkoplasmatu masa tak může indikovat předcházející zmrazení. Na základě této hypotézy byla vyvinuta metoda na rozlišení čerstvého masa od zmrazeného/rozmraženého. Dalším cílem studie bylo porovnat aktivitu mitochondriálního enzymu akonitázy u kuřecích prsou a stehen skladovaných při různých podmínkách. Enzym byl nalezen i v exsudátu z masa čerstvého, nicméně aktivita akonitázy u rozmraženého masa je výrazně vyšší. Aktivita enzymu se navíc liší i v závislosti na měřené části kuřecího JUT.

Úvod

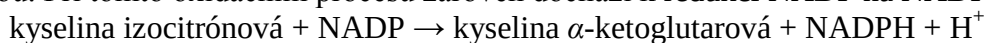
Zmrazením masa dochází ke ztrátě čerstvého vzhledu masa, ztrátám odkapem a dalším změnám, které mají negativní vliv na senzorické vlastnosti masa; tyto změny jsou větší než u masa skladovaného při chladírenských teplotách (Leygonie et al., 2012).

Ledové krystalky vzniklé při zmrazování způsobují poškození vnitrobuněčných organel (mitochondrie a lysozomy) a uvolnění v nich umístěných enzymů, jež mohou být vhodnou metodou detekovány (Hamm, 1979). Všechny enzymy přítomné v buňce však nejsou vhodné pro detekci zmrazení, neboť nemusí být jenom vnitrobuněčné a tudíž specifické (Hamm, 1979). Citrátsyntáza a akonitáza jsou typické intracelulárními enzymy, uvolňují se po zmrazení a splňují podmínky k využití jako specifické markery (Hamm a Gottesmann, 1984), dalšími intracelulárními enzymy jsou např.: β -hydroxyacyl-CoA-dehydrogenáza (HADH), N-acetyl- β -glukozaminidáza (Ellebroek, 1995) aj.

V dřívější práci (Šimoniová et al., 2013) byla jako marker pro detekci zmrazení použita citrátsyntáza. Paralelně se uskutečnily stejné pokusy s akonitázou. Akonitáza katalyzuje reverzibilní izomeraci kyseliny citrónové na izocitrónovou přes intermediát *cis*-akonitovou kyselinu v Krebsově cyklu.



Následující reakcí je oxidační dekarboxylace kyseliny isocitrónové na kyselinu α -ketoglutarovou. Při tomto oxidačním procesu zároveň dochází k redukci NADP na NADPH.



Změna koncentrace NADPH je detekována spektrofotometricky při 340 nm a je přímo úměrná aktivitě akonitázy. Výhodou této metody je, že akonitáza je specifický enzym (OxisResearchTM, 2012).

Materiál a metody

Pokusy byly rozděleny do tří částí. První série měření sloužila k ověření metodiky a ke zjištění, zda je vůbec možné aktivitu akonitázy v exsudátu kuřecího masa detekovat. A pokud ano, tak jak je ovlivněna způsoby a délkou skladování. Aktivita akonitázy byla u chlazených vzorků měřena po 2 a 7 dnech skladování. U mrazírensky skladovaných vzorků byla aktivita akonitázy měřena také po 2 a 7 dnech a dále i po 12 dnech skladování.

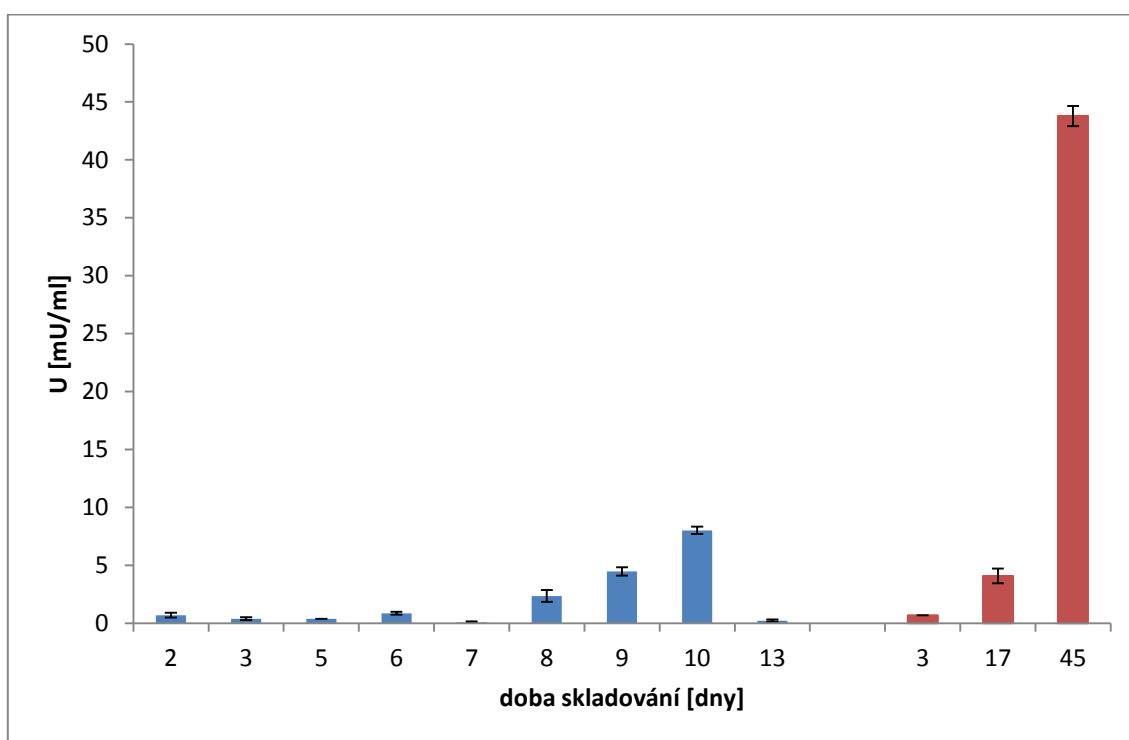
Bylo zjištěno, že získaný exsudát je v některých případech zakalený a tento zákal ovlivňoval hodnotu absorbance. Proto bylo při druhém experimentu zařazeno filtrování exsudátu pomocí stříkačkového filtru (CHS FilterPure Nylon Syringe Filter, 0,45 μm , 25 mm). Aktivita akonitázy byla měřena u chlazených vzorků po 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10 a 13 dnech skladování, u mrazírensky skladovaných vzorků po 3, 17 a 45 dnech skladování.

Třetí experiment byl založen na znalostech získaných z předešlých experimentů, a sloužil tedy jako opakovací test dvou předešlých. Měření se uskutečnilo ve stejných intervalech, jako u druhého experimentu.

Výsledky a diskuse

Specifické enzymy by měly být přítomny pouze v exsudátu z rozmrazeného masa, a neměly by se tedy nacházet u masa čerstvého (Alizadeh et al., 2007). Avšak několik experimentálních prací toto tvrzení nepotvrzuje (Hamm a Gottesmann, 1984; Guillaume et al., 2002; Šimoniová et al., 2013). Vzhledem k těmto zjištěním bylo cílem odlišit maso čerstvé od rozmrazeného pomocí změny v hodnotě absorbance aktivity akonitázy.

Při ověřování metodiky byly získány značně kolísavé hodnoty aktivity akonitázy pro jednotlivé vzorky, což znemožňovalo správné vyhodnocení. Exsudát byl proto při dalších pokusech filtrován, jelikož rozdílné hodnoty mohly být způsobeny bílkovinami v něm přítomnými.



Graf 1: Závislost aktivity akonitázy na době a způsobu skladování; modrá – chladiřenské, červená – mraziřenské

Filtrováním exsudátu bylo docíleno ustálených hodnot aktivity akonitázy; rozptyl hodnot se snížil. Trend u obou způsobů skladování byl vzrůstající (Graf 1), jako tomu bylo i u prvního

pokusu, kdy se ověřovala samotná metodika. Rozdíl hodnot aktivity akonitázy mezi chladírensky a mrazírensky skladovanými vzorky se výrazně zvýšil oproti prvnímu pokusu.

Tab. 1: Závislost aktivity akonitázy na době a způsobu skladování

Způsob skladování	Doba skladování [dny]	Anatomická část	
		Stehna	Prsa
		U [mU/ml]	U [mU/ml]
Chladírenské	2	0,442 ± 0,215	0,958 ± 0,215
	3	0,792 ± 0,248	-
	5	0,761 ± 0,000	-
	6	-	1,722 ± 0,248
	7	-	0,189 ± 0,124
	8	2,949 ± 0,328	1,763 ± 0,700
	9	4,575 ± 0,263	4,374 ± 0,452
	10	4,411 ± 0,372	11,644 ± 0,256
Mrazírenské	3	0,330 ± 0,000	1,080 ± 0,256
	17	1,034 ± 0,200	7,166 ± 1,063
	45	8,948 ± 0,396	78,636 ± 1,352

Poslední experiment sloužil pro ověření výsledků prvního a druhého pokusu. Byl sledován zvlášť průběh aktivity akonitázy u stehen a prsou. Stejně jako v předešlých pokusech aktivita akonitázy stoupala u obou způsobů skladování. Na počátku chladírenského skladování nebyl mezi prsy a stehny rozdíl aktivity akonitázy významný (Tab. 1), zlom nastal až na konci doby skladování, kdy aktivita akonitázy u prsou byla třikrát vyšší. U mrazírenského skladování byl tento rozdíl možné sledovat již od začátku.

Závěr

Aktivita akonitázy byla měřena v exsudátu spontánně uvolněného z celých vzorků masa. Její aktivita stoupala během mrazírenského i chladírenského skladování, ač na počátku byly její hodnoty v obou případech podobné. Kuřecí prsa ukázala vyšší hodnoty enzymové aktivity a tento nárůst byl výraznější než u stehen. Akonitáza se ukázala být vhodným enzymem pro detekci zmrazení masa. Průběh její aktivity je porovnatelný s citrátsyntázou, avšak při porovnání těchto metod je patrné, že akonitáza je citlivější metodou.

Tato studie se uskutečnila za podpory Ministerstva zemědělství (NAZV) QI111B053.

Literatura

1. Alizadeh E., Chapleau N., de Lamballerie M., Le-Bail A. (2007): Effect of different freezing processes on the microstructure of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 8: 493-499.
2. Ellerbroek L.I., Lichtenberg G., Weise E. (1995): Differentiation between fresh and thawed meat by an enzyme profile test. *Meat Sci.* 40 (2), 203–209.
3. Duflos G., Le Fur B., Veronique Mulak, Becel P., Malle P. (2002): Comparison of methods of differentiating between fresh and frozen-thawed fish or fillets. *J. Sci. Food Agric.* [Online] 82, 1341-1345. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.1195/full> (accessed April 22, 2013).
4. Hamm R., Gottesmann P. (1984): Release of mitochondrial enzymes by freezing and thawing of meat: structural and analytical aspects, *Proc. Euro. Meat Res. Work. Meeting* 3: 152-155.

5. Hamm R., Gottesmann P. (1984): Lipoamiddehydrogenase, Citratsynthase und β -Hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase des Skelettmuskels. IV. Einfluss der Lagerung von Rinder- und Schweinemuskel bei + 2 °C auf Aktivität und subcellulare Verteilung. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* 179, 205–209.
6. Hamm R., (1979), Delocalization of Mitochondrial Enzymes During Freezing and Thawing of Skeletal Muscle. *Adv. Chem. Ser.* 180: 191–204.
7. Leygonie C., Britz T.J., Hoffman L.C. (2012): Impact of freezing and thawing on the quality of meat. *Meat Sci.* 91 (2), 93–98.
8. OxisResearchTM, http://www.oxisresearch.com/product_details_new.html? Product Selector=21041. 18.3.2012
9. Šimoniová A., Rohlík B.-A., Škorpilová T., Petrová M., Pipek P. (2013): Differentiation Between Fresh and Thawed Chicken Meats. *Czech J. Food Sci.* 31(2), 108-115.

P 16**VLIV PŘÍDAVKU PŘÍRODNÍCH ANTIOXIDANTŮ NA STABILITU BARVY JÁTROVÝCH PAŠTIK**Pohůnek V.¹, Ševčík R.¹, Sliva P.¹, Domingues J.², Voldřich M.¹¹ Ústav konzervace potravin, VŠCHT v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6² Faculty of Biotechnology, Portuguese Catholic University, 4200-072 Porto, Portugal

Nečastější jakostní vady paštik se projevují změnou barvy (šednutí povrchu). Vzhledem k chemickému složení surovin (vysoký obsah tuků, proteinů, hemového a nehemového železa), technologickému zpracování (krájení, mělnění), tepelnou úpravou a následným skladováním, je játrová paštika citlivá k oxidaci lipidů a proteinů. Tato oxidace se projevuje změnou senzorických vlastností, kdy se nejvíce projevují barevné změny. Přídavek přírodních antioxidantů (rozmarýnový extrakt) výrazně snižuje tuto oxidaci a příznivě ovlivňuje barvu výsledného produktu. Modelové experimenty vycházely z vlivu přídavku rozmarýnového extraktu na stabilitu barvy a vzájemným porovnáním s kontrolními vzorky (bez přídavku rozmarýnového extraktu).

Vzorky játrových paštik

- PA - kyselina askorbová
- PA RE - kyselina askorbová AA a extrakt rozmarýnu RE (6,01 % kyseliny karnosové¹)
- PV RE - extrakt rozmarýnu (40 mg/kg kyseliny karnosové¹)
- PK RE - extrakt rozmarýnu (6,01 % kyseliny karnosové¹)
- Kontrolní (DSS) - kontrolní vzorek (dusitanová solící směs, bez přídavku antioxidantů)

¹ Deklarované výrobcem

Obr. 1 Paštika s kyselinou askorbovou



Obr. 2 Paštika s rozmarýnovým extraktem



Obr. 3 Paštika bez dusitanů a antioxidantů

Výroba játrových paštik

Základní receptura:

- 250 g jater
- 450 g vepřového boku
- 300 g vývaru
- DSS, koření

Dílo bylo naplněno do zavařovacích sklenic a forem (hřbety). Bylo použito takové tepelné ošetření, kdy bylo dosaženo 72 °C po dobu 10 minut v nejhůře prohřívaném místě. Po zchlazení výrobků byly hřbety nakrájeny a vakuově zabaleny do PE folie.

Metoda měřeníStandardní barevný prostor *CIE 1976 (L*a*b*)* – *CIELAB*Specifikace spektrofotometru CM - 2600d/2500d

Mask: SAV (3 mm)

Gloss: SCI+SCE

UV: 100% FULL

Observer: 10 degree

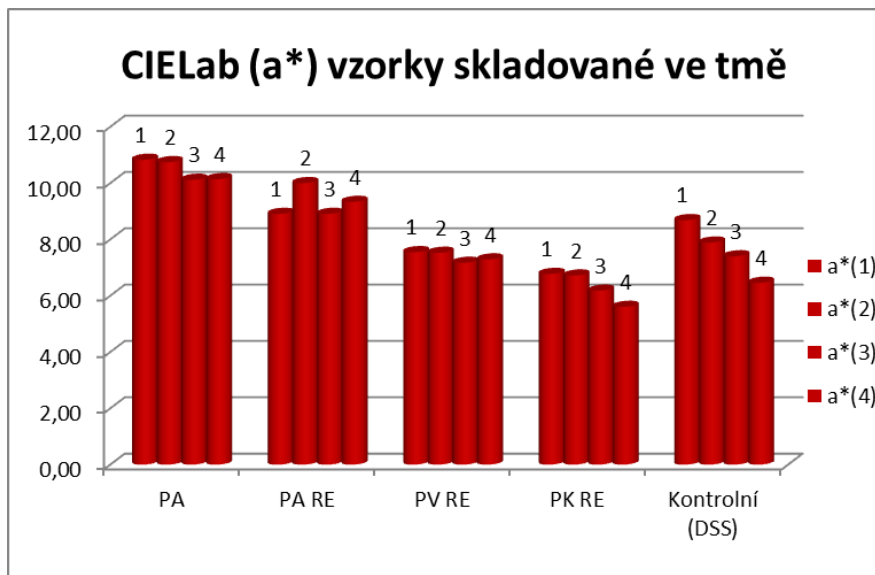
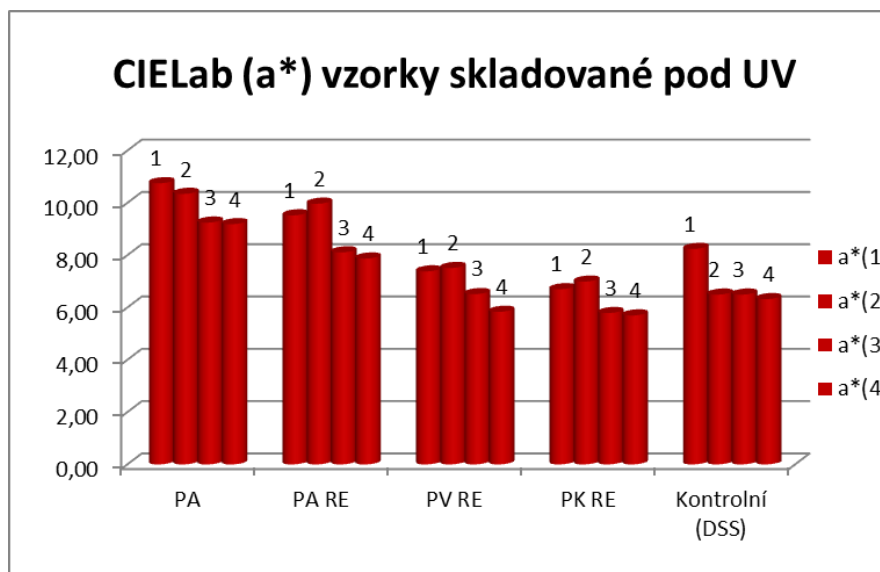
Illuminant 1: D 65

Display: Difference and absolute

Color space: L*a*b*, dE*

Teplota skladování vzorků: 4°C

1. Měření – počáteční měření po krájení a zabalení vzorků
2. až 4. měření – hodnotíme vliv chladírenského skladování (ve tmě a pod UV osvětlením)

Výsledky a diskuze**Graf 1.** Pokles parametru a* za sledované období u vzorků skladovaných ve tmě**Graf 2.** Pokles parametru a* za sledované období u vzorků skladovaných pod UV osvětlením

Pozitivní vliv přidaných antioxidantů se potvrdil především u vzorků s přidavkem kyseliny askorbové (PA a PA RE). Vzorek PA měl nejvyšší hodnotu parametru a^* . U vzorku s přidavkem kyseliny askorbové a extraktu rozmarýnu RE (PA RE) ve srovnání se vzorkem s přidavkem kyseliny askorbové (PA) se projevil antagonistický efekt látek extraktu rozmarýnu RE (kyselina karnosová, karnosol) na antioxidační účinek kyseliny askorbové a došlo k poklesu parametru a^* ve vzorku PA RE oproti vzorku PA.

Při porovnání vzorků s přidavkem extraktu rozmarýnu RE o různých koncentracích kyseliny karnosové je zajímavé, že vzorek s vyšším obsahem kyseliny karnosové (PK RE) vykazuje pokles parametru a^* oproti vzorku s nižším obsahem kyseliny karnosové (PV RE).

V průběhu chladírenského skladování pod UV osvětlením (2-4 měření) hodnota parametru a^* klesá po celou dobu skladování u všech vzorků. Při chladírenském skladování ve tmě (2-4 měření) se hodnota parametru a^* mění málo nebo nevýznamně.

Oproti kontrolní skupině mají vzorky s přidavkem kyseliny askorbové vyšší hodnotu parametru a^* a vzorky s přidavkem extraktu rozmarýnu RE mají hodnotu parametru a^* nižší.

Závěry

- Byl pozorován významný vliv přidavku antioxidantů na změnu barvy v porovnání s kontrolním vzorkem
- Osvědčil se přidavek kyseliny askorbové do díla při výrobě játrových paštik
- Přídavek extraktu rozmarýnu se osvědčil v kombinaci s kyselinou askorbovou
- Bylo zjištěno, že vyšší koncentrace kyseliny karnosové má negativní vliv na hodnotu červené barvy (parametr a^*)

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.20/2013)

Reference:

1. DOOLAEGE, E. H. A., VOSSEN, E., RAES, K., MEULENAER, B., VERHÉ, R., PAELINCK, H., SMET, S. D. Effect of rosemary extract dose on lipid oxidation, colour stability and antioxidant concentrations, in reduced nitrite liver pâtés. *Meat Sci.*, 2012, vol. 90, p. 925–931.
2. ESTÉVEZ, M., RAMÓN, C. Lipid and protein oxidation, release of iron from heme molecule and colour deterioration during refrigerated storage of liver pate. *Meat Sci.*, 2004, vol. 68, p. 551–558.
3. ESTÉVEZ, M., VENTANAS, S., CAVA, R. Effect of natural and synthetic antioxidants on protein oxidation and colour and texture changes in refrigerated stored porcine liver pate. *Meat Sci.*, 2006, vol. 74, p. 396–403.

P 17**PŘÍČINY A MOŽNÉ ZPŮSOBY PREVENCE TVORBY BÍLÝCH SKVRN NA SALÁMECH A KLOBÁSÁCH**

Ševčík R., Pohůnek V., Rajchl A., Čížková H., Pivoňka J., Voldřich M.

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

Příčiny nejčastějších povrchových vad salámů a klobás (fermentované nebo tepelně opracované a sušené), se projevují vznikem bílých skvrn na povrchu obalu. Bílé skvrny jsou tvořeny krystalizací solí přítomných v salámech. Tyto soli jsou schopny procházet obalem v případě, že obal sám a povrch výrobku je vlhký. Vada probíhá v případě kondenzace vodní páry na povrchu produktu, kdy skladovací teploty nejsou stabilní. Modelové experimenty vycházely z vlivu vlastností obalu (propustnost vodních par, voda na povrchu obalu). Použité obaly byla přírodní střeva, kolagenní střívka nebo celulózová střeva. Byla nalezena korelace mezi tvorbou bílých skvrn v místě vzniku kondenzace vody a propustností daného obalu.

Vzorky

Kolagenní střívka: Fine 19, Fine 24, Fine 31

Celulózová střeva: SPRL- M, SPRL-A, SPRL-F

Celulózová střeva: Visko LAF 55 X3T, Visko LAF 55 RTU

Metody

Kapilární isotachoforéza cITP

Mikroskopické a makroskopické metody

Metoda pro měření propustnosti vodních par

Podmínky kapilární isotachoforézy cITP

Přístroj: EA101, FEP analytická kapilární 90x0,3 mm

Aniontový režim:

Vedoucí elektrolyt: 2mM $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ + 0.1% HEC (2-hydroxyethyl celulóza)

Koncový elektrolyt: 10mM citronová kyselina

Kolona: FEP analytická kapilární 0.8/90

Řídící proud: 150 μA a 25 μA

Kationtový režim:

Vedoucí elektrolyt: 7.5mM H_2SO_4 + 0.1% HEC (2-hydroxyethyl celulóza)

Koncový elektrolyt: 5 mM citronan litný.

Kolona: FEP analytická kapilární 0.8/90+ 0.3/90

Řídící proud: 150 μA a 25 μA **Mikroskopická analýza**

Mikroskopická analýza byla provedena pomocí mikroskopu BAM 2006 PC/oo a digitálního fotoaparátu Nikon Coolpix 4500. Vyhodnocení pomocí softwaru Lucia 4,60

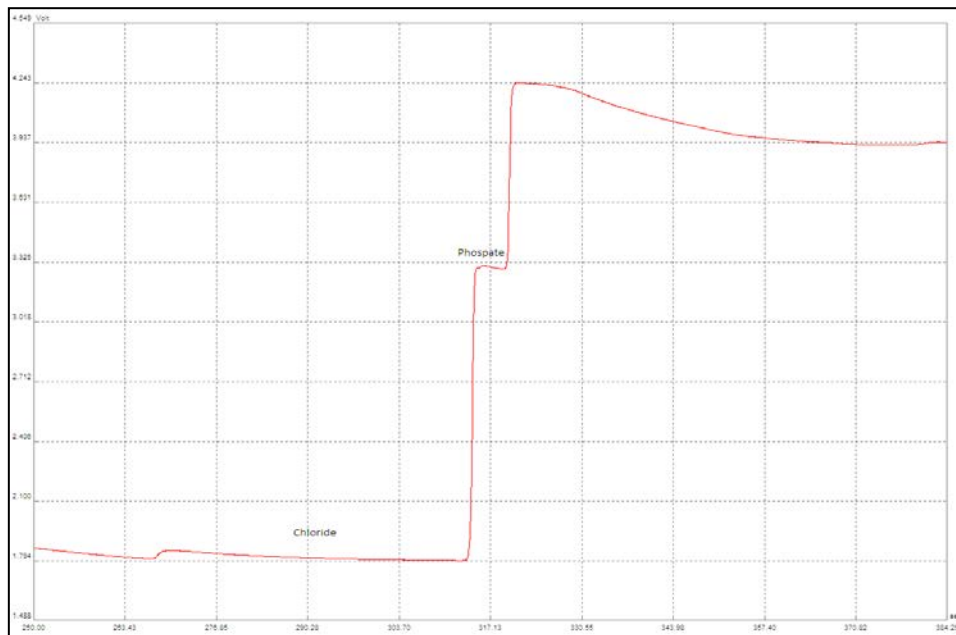
Makroskopická analýza

Makroskopická analýza byla provedena pomocí fotoaparátu Nikon Coolpix L120

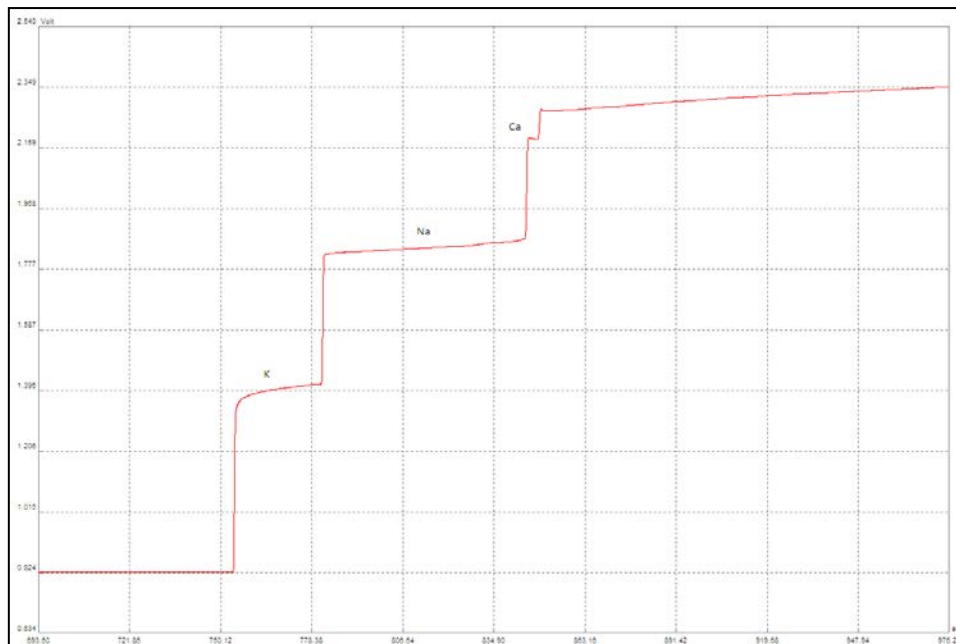
Podmínky při měření permeability

Doba skladování: 7 dní

Skladovací teplota: 30 ° C



Graf 1. Isotachoforegram – anionty



Graf 2. Isotachoforegram - kationty

Výpočet permeability

$$Q = \frac{P}{x} \times (p_1 - p_2) \times A \times \tau$$

$$Q = \left[\frac{\text{g} \times \mu\text{m}}{\text{cm}^2 \times \text{den} \times 0,1\text{MPa}} \right]$$

Q... permeabilita

P... množství látky, která proniká skrz vrstvu střeva

x ... tloušťka střeva

p_1, p_2 ... parciální tlak na obou stranách střeva

A... povrch střeva

τ ... doba pronikání

Tabulka 1. Tloušťka vzorků a výpočet permeability

Vzorky střev	Tloušťka[μm]	Permeabilita Q [g/(cm ² .day.0,1MPa)]
Fine 19	64,2	1,4719
Fine 24	66,2	1,3814
Fine 31	74,2	1,2407
SPRL-M	88,0	0,1144
SPRL-A	88,0	0,1105
SPRL-F (olejový film)	88,0	0,1107
st 1 A,B	91,2	0,1406
st 2 A,B	149,0	0,0803

Závěry

- Bílé skvrny se vytvářejí krystalizací solí (chloridu sodného a draselného, a fosfátu sodného a draselného).
- Bílé skvrny jsou obvykle dvou typů: jehličky – fosfáty a krystaly – chloridy.
- Hlavní příčina vzniku těchto bílých skvrn je nevhodné skladování masných výrobků.
- Použití fosfátů jako aditiv zvyšuje riziko vzniku bílých skvrn.

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.20/2013)

Reference:

1. M.P. Ruiz Pérez-Cacho, H. Galán-Soldevilla, F. León Crespo, G. Molina Recio: Determination of the sensory attributes of a Spanish dry-cured sausage, Meat Science, Volume 71, Issue 4, December 2005, Pages 620-633.
2. T.I. Magra, J.G. Bloukas, G.A. Fista: Effect of frozen and dried leek on processing and quality characteristics of Greek traditional sausages, Meat Science, Volume 72, Issue 2, February 2006, Pages 280-287.
3. Jonathan Rason, Jean-François Martin, Eric Dufour, Annick Lebecque: Diversity of the sensory characteristics of traditional dry sausages from the centre of France: Relation with regional manufacturing practice, Food Quality and Preference, Volume 18, Issue 3, April 2007.

P 18**POSOUZENÍ NESTANDARDNÍCH SENZORICKÝCH VLASTNOSTÍ U MASNÝCH VÝROBKŮ**

Ševčík R., Pohůnek V., Čížková H., Rajchl A., Votavová L., Voldřich M.

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

Dušené šunky a celosvalové masné výrobky vykazovaly netypické senzorické vlastnosti. U šunek po odstranění střeva byla vůně výrobků netypická s přípachem po chemických, desinfekčních, ropných látkách. Chuť výrobků byla významně nahořklá, přičemž intenzita hořké chuti klesala u výrobků směrem do středu výrobku. U celosvalových masných výrobků byly pozorovány barevné skvrny. V práci byly diskutovány možné příčiny vzniku netypického aroma a zbarvení masných výrobků.

Vzorky

Šunky se žlutými skvrnami na povrchu, šunky s přípachem



Obr. 1 Žluté skvrny na šunce



Obr. 2 Žluté skvrny na šunce



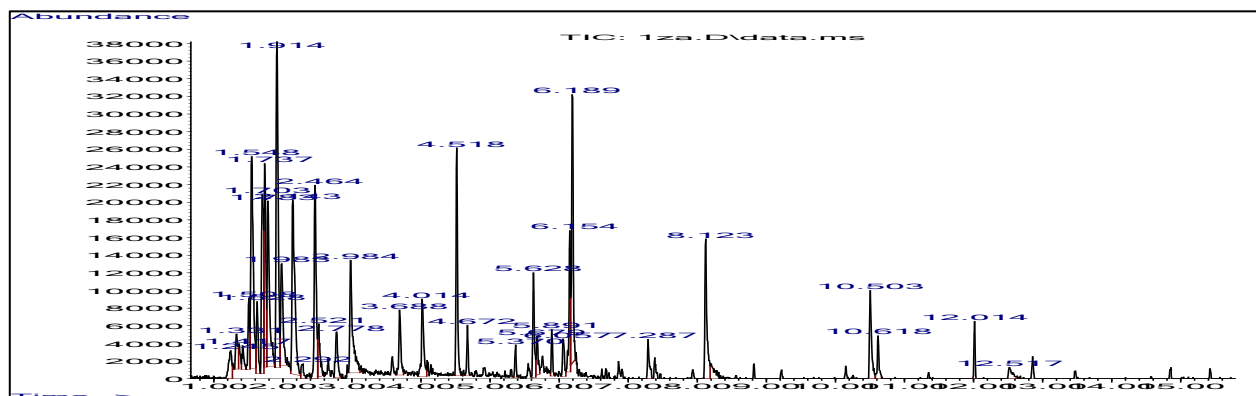
Obr. 3 Vzorek šunky s přípachem z obalu

Šunky vykazují netypické senzorické vlastnosti. Po odstranění střeva je vůně výrobků netypická s přípachem po chemických, desinfekčních, ropných látkách. Chuť výrobků je významně nahořklá, přičemž intenzita hořké chuti klesá směrem do středu výrobku. Stejný přípach identifikovali proškolení posuzovatelé i u dodaného obalového materiálu.

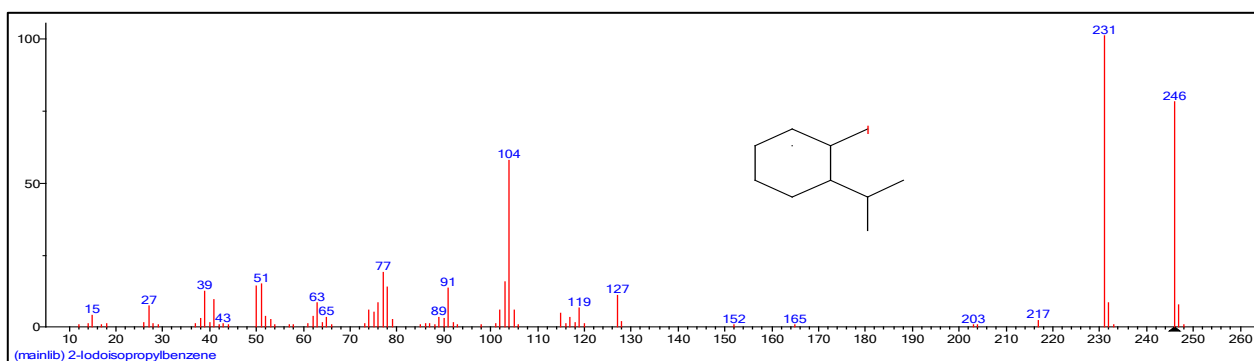
Senzorické hodnocení (stanovení rozdílu mezi vzorky trojúhelníkovou metodou). Souboru deseti posuzovatelů bylo předloženo po třech trojúhelnících (N = 30), počet správných odpovědí byl 29, z čehož vyplývá, že rozdíl mezi vzorky je statisticky průkazný (na hladině pravděpodobnosti P=95 %).

Výsledky GC/MS

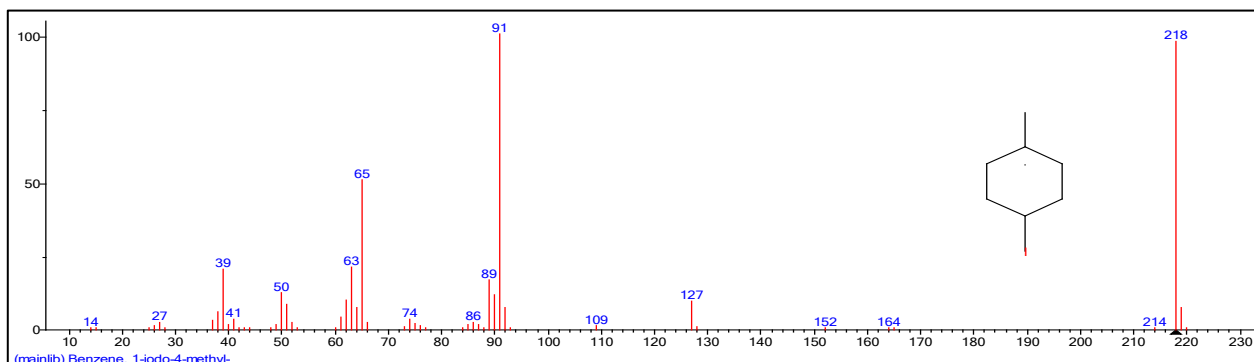
Ve vzorcích šunky byly identifikovány jodované aromatické uhlovodíky (1-jodo-4-methyl-benzen a 2-jodo-4-isopropyl-benzen).



Obr. 4 Chromatogram povrchu šunky (vzorek šunky odebrán pod obalem)



Obr. 5 Hmotnostní spektrum 2- 2-jodo-4-isopropyl-benzen (iodocumen)



Obr. 6 Hmotnostní spektrum 1-jodo-4-methyl-benzen (4-iodotoluen)

Makroskopická analýza

Makroskopická analýza byla provedena pomocí fotoaparátu Nikon Coolpix L120

Závěry

Vznik žlutých skvrn

Možné příčiny oxidace hemových barviv:

- Působením vzduchu, peroxidu vodíku, enzymů nebo mikroorganismů
- Oxidace metmyoglobinu (roztržení porfyrinového kruhu) - vznik zelených barviv choleglobinu, verdoglobinu a verdohaem → odštěpení bílkovinné složky a železa, vznik modrozeleného biliverdinu → redukce na bilirubin (žlutý)
- Předávkování preparátu na bázi vepřové bílkoviny - žlutý prášek – přebytek bude patrný v nákroji
- Pokud při dávkování preparátu zůstane ve výrobku zbytek hemových barviv, které v případě nedostatku dusitanu na reakci, mohou oxidovat

Senzorický defekt – přípach

- S největší pravděpodobností jsou příčinou senzorického defektu u šunek jodované aromatické uhlovodíky, které byly identifikovány u vzorků s nestandardními senzorickými vlastnostmi. Tyto látky se používají jako fotoiniciátory při výrobě polymerních obalových materiálů a tiskových barev, respektive vznikají rozkladem fotoiniciátorů. Zdrojem látek je použitý obalový materiál, folie, která vykazuje zřetelný zápach a není vhodná pro výrobu masných výrobků.
- Fotoiniciátory uvedeného typu jsou označovány jako netoxické, ale ke konkrétním identifikovaným látkám nejsou k dispozici žádná toxikologická data. V každém případě dodaná folie neodpovídá specifikaci produktu, protože obalový materiál určený pro balení potravin musí být mimo jiné senzoricky inertní a nesmí ovlivnit vlastnosti výrobku.

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.20/2013)

Reference:

1. Kristensen, L. and Andersen, H.J. 1997. Effect of heat denaturation on the pro-oxidative activity of metmyoglobin in linoleic acid emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 45:7-13.
2. Krzywicki, K. 1979. Assessment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef. *Meat Sci.* 3:1-10.
3. Brown, W.D. and Mebine, L.B. 1969. Autoxidation of oxymyoglobins. *J. Biol. Chem.* 244:6696-6701.

P 19**TRVANLIVÉ MASNÉ VÝROBKY SE SNÍŽENÝM OBSAHEM TUKU**

Pavlík Z., Saláková A., Kameník J.

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

Abstrakt

Vepřové sádlo, jeho kvalita a obsah, má vliv na strukturu trvanlivých masných výrobků, které běžně obsahují až 50 % tuku. Proto jsou tyto výrobky kritizovány pro vysoký obsah tuku z hlediska lidské výživy a zdraví. V současné době se hledají možnosti, jak obsah tuku v těchto výrobcích zredukovat.

V technologické dílně Ústavu hygieny a technologie masa byly vyrobeny trvanlivé masné výrobky se sníženým obsahem tuku za použití komerčně vyráběné tukové náhrady na bázi alginátu. U výrobků byly sledovány fyzikálně chemické parametry (pH, a_w , obsah sušiny, obsah tuku) a instrumentálně měřena textura v průběhu zrání salámů a u hotových výrobků. Byly zjištěny rozdíly mezi kontrolními vzorky a vzorky se sníženým obsahem tuku. Při výrobě bylo použito o 25 % méně vepřového sádla, na hotovém výrobku se toto projevilo celkovým snížením obsahu tuku o téměř 9 %.

Klíčová slova: trvanlivé fermentované salámy, vepřové sádlo, náhrada tuku, senzorická analýza

Úvod

Trvanlivé fermentované salámy jsou masné výrobky s vysokým obsahem tuku, který je viditelný na nákreji produktu. Obsah tuku v těchto výrobcích se u klasické receptury pohybuje okolo 30 % bezprostředně po přípravě, během prvního týdne zrání stoupá až na 40 % a na konci zrání (3 – 4 týdny) je obsah tuku v důsledku sušení výrobku 40 – 50 % (Wirth, 1988).

V masných výrobcích obsažený tuk přímo ovlivňuje chuť, texturu, šťavnatost a celkový vjem při skusu výrobku. Jakékoli snížení obsahu tuku ve výrobku může mít tedy za následek zhoršení senzorické jakosti a odmítnutí konzumentem. Navíc mají částice tuku v trvanlivých fermentovaných salámech důležitou technologickou funkci. Umožňují pozvolné unikání vlhkosti ze středu výrobku k jeho povrchu, což je proces, který je absolutně nezbytný v technologii těchto produktů. Závisí na něm správný průběh fermentace a sušení, vývoj chuti a aroma (Muguerza et al., 2002).

Trvanlivé fermentované salámy, které jsou vyrobeny s menším obsahem tuku, vykazují vzhledové vady (zvrásněný povrch), jsou tvrdé z důvodu vysokých procentuálních ztrát hmotnosti (Muguerza et al., 2002). Nemusí však nutně dojít ke zhoršení senzorických vlastností (především chuti), byť je vývoj chuti úzce spojen s lipolýzou přítomného tuku a následnou oxidací mastných kyselin za vzniku těkavých produktů (Gandemer, 2002; Zanardi et al., 2004). Výsledky senzorického hodnocení trvanlivých fermentovaných salámů se sníženým obsahem tuku se totiž liší. Zatímco někteří autoři uvádějí zhoršení chuti u takových výrobků (Mendoza et al., 2001; Olivares et al., 2010), jiní rozdíly nezaznamenali (Liaros et al., 2009; Muguerza et al., 2001).

Jako možné náhrady tuku jsou testovány různé hydrokoloidní systémy, které mají vysokou schopnost vázat vodu (Weiss et al., 2010). Garcia-Garcia and Totosa (2008) testovali použití alginátu, karagenanu, xantanové gumy, derivátů celulózy, škrobu a pektinu. Došli k závěru, že vhodnou kombinací pro náhradu tuku v masném výrobku je směs karagenanu a karobové gumy. V masném výrobku působí taková směs zlepšení textury, vaznost vody, má pouze malý vliv na barvu a je senzoricky přijatelná.

Cílem této práce bylo sledovat vliv nahrazení části sádla v díle trvanlivých fermentovaných salámů komerčně vyráběnou tukovou náhradou na bázi alginátu.

Materiál a metodika

V technologické dílně Ústavu hygieny a technologie masa VFU Brno byly vyrobeny vzorky trvanlivého fermentovaného salámu. Kontrolní skupina vzorků byla vyrobena podle klasické receptury, která obsahuje 1/3 vepřového hřbetního sádla. U pokusné skupiny vzorků byla místo poloviny dílu vepřového sádla přidána tuková náhrada. Náhrada tuku byla připravena z komerčně vyráběného preparátu (směs se zamíchá v kutru s šupinkovým ledem a následně se přidá vepřové sádlo v podílu 1:1, po důkladném zamíchání se celá směs zamrazí a při výrobě díla salámu se přidává společně s vepřovým sádlem). Byly provedeny analýzy základních fyzikálně-chemických parametrů v díle výrobku a na konci zrání a instrumentální měření textury a senzorické hodnocení hotových výrobků.

Hodnota pH byla měřena pH-metrem WTW pH 340i (WTW GmbH, Weilheim, Německo) s vpichovou elektrodou Double Pore (Hamilton, Švýcarsko). Aktivita vody a_w byla měřena na přístroji Novasina LabMaster (Novasina, Švýcarsko) při teplotě 25 °C. Obsah sušiny byl stanoven pomocí gravimetrického stanovení – suší se při teplotě 103 ± 2 °C po dobu 24 hodin. Obsah tuku byl stanoven na přístroji SOXTEC firmy Tecator. Jako extrakční činidlo byl použit diethylether. Obsah čistých svalových bílkovin byl spočten jako rozdíl obsahu čistých bílkovin a kolagenu. Čisté bílkoviny byly stanoveny po vysrážení nebílkovinných N-látek horkým roztokem taninu a následném převodu organického dusíku na anorganický dusík na přístroji KJEHLTEC firmy Tecator. Pro přepočet obsahu dusíku na obsah bílkovin byl použit faktor 6,25 (Válková et al., 2007). Objektivní měření textury bylo hodnoceno na přístroji INSTRON 5544 (Instron Corporation, USA). Byla provedena analýza texturního profilu (TPA), která simuluje žvýkání člověka v ústech, cylindrické vzorky masných výrobků o průměru 25 mm a výšce 20 mm byly stlačovány ve 2 cyklech na 50% deformaci. Rychlost příčniku byla 50 mm/min.

Výsledky a diskuze

Výsledky fyzikálně chemické analýzy trvanlivých fermentovaných salámů v závislosti na použití náhrady tuku jsou uvedeny v tabulce 1. Nahrazení části vepřového sádla nemělo vliv na hodnotu pH a aktivitu vody. Průměrné hodnoty pH u obou skupin výrobků v průběhu zrání klesly z 5,98 respektive 5,96 na hodnoty okolo 5,20 to je v rozmezí běžném pro trvanlivé fermentované salámy (Herrero et al., 2007). Hodnota aktivity vody byla u všech vzorků po dokončení zrání nižší než a_w 0,93 (limit Vyhlášky č. 326/2001 Sb. v platném znění). Zjištěné hodnoty aktivity vody pod a_w 0,90 odpovídají výsledkům u fermentovaných salámů s delší dobou zrání než 21 dní (Ščetar et al., 2013). V díle vzorků s tukovou náhradou byl nižší obsah sušiny ve srovnání s kontrolou (část náhrady tvoří voda ve formě šupinového ledu). V průběhu zrání dochází u těchto vzorků k vyšším ztrátám hmotnosti. Na konci zrání byl obsah sušiny srovnatelný s kontrolou. Obsah tuku byl u hotových výrobků nižší o téměř 9 % u skupiny s tukovou náhradou. U této skupiny výrobků byl naopak vyšší obsah čistých svalových bílkovin.

Tabulka 1: Výsledky fyzikálně chemické analýzy trvanlivých fermentovaných salámů v závislosti na použití náhrady tuku

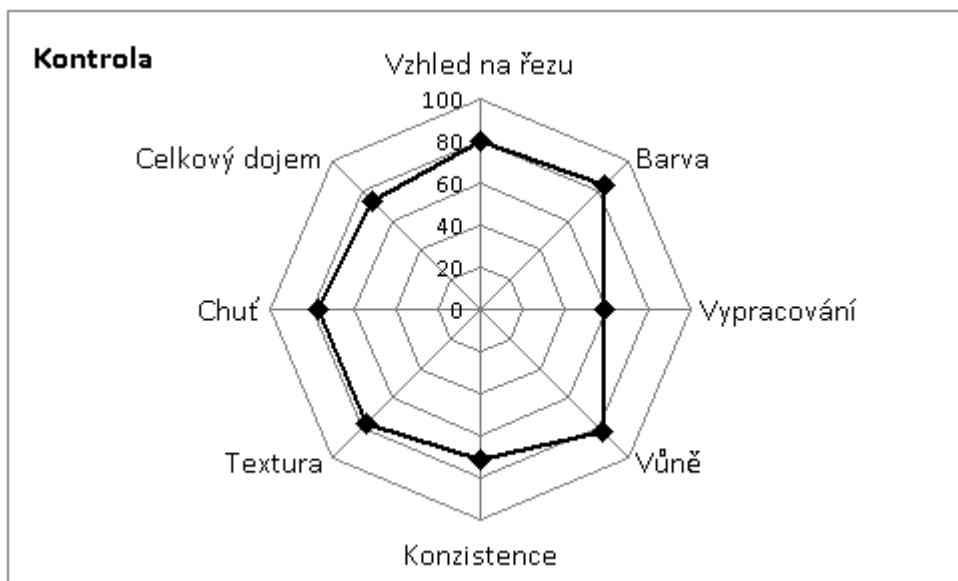
Vzorek	pH	a_w	sušina [%]	tuk [%]	ČSB [%]
Kontrolní vzorek					
dílo	5,98 ± 0,00	0,943 ± 0,000	50,01 ± 0,30	32,14 ± 2,74	11,27 ± 0,22
hotový výrobek (21 dní)	5,25 ± 0,00	0,876 ± 0,000	72,40 ± 0,46	46,85 ± 0,04	16,26 ± 0,27
Vzorek s tukovou náhradou					
dílo	5,96 ± 0,01	0,952 ± 0,000	42,43 ± 0,27	22,41 ± 0,77	11,29 ± 1,32
hotový výrobek (21 dní)	5,19 ± 0,00	0,878 ± 0,000	70,24 ± 0,33	38,10 ± 1,21	19,40 ± 0,38

ČSB – čisté svalové bílkoviny

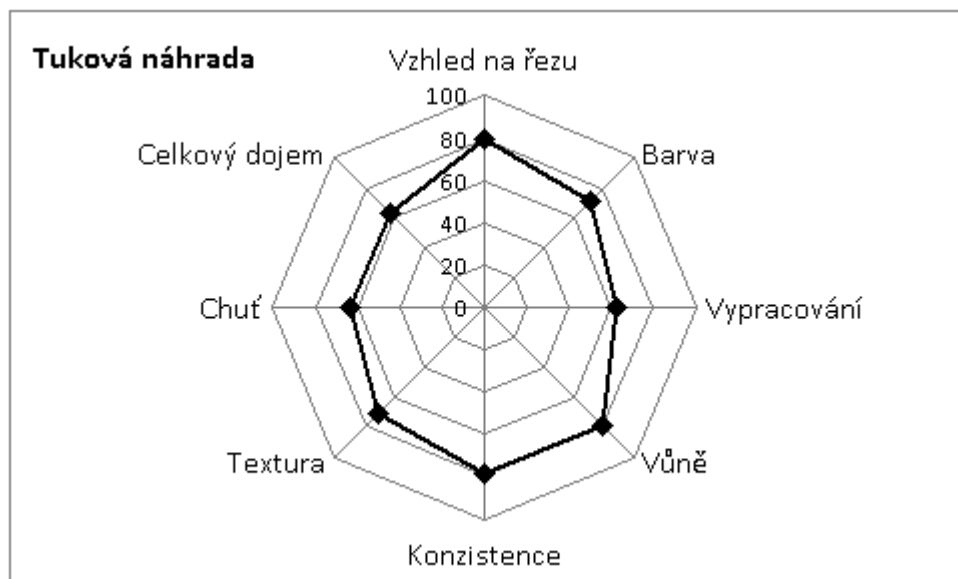
Instrumentálním měřením textury (sledovaným parametrem byla maximální síla potřebná pro první kompresi vzorku – tuhost) bylo zjištěno, že tuhost vzorků s tukovou náhradou je u hotových výrobků vyšší v porovnání s kontrolou. Rozdíly v textuře lze při nahrazování vepřového sádla očekávat. Vliv na texturu má podle dalších autorů použití náhrady tuku (Garcia-Garcia and Totosaus, 2008) a také rozdílný obsah tuku v hotovém výrobku (Herrero et al., 2007).

Při senzorickém hodnocení nebyly hodnotiteli zaznamenány významné rozdíly ve vůni, konzistenci, textuře na skusu, vypracování výrobku nebo jeho vzhledu na řezu. Rozdíly byly zaznamenány v barvě a chuti, což ovlivnilo i celkový dojem z výrobku (Graf 1 a 2). Žádný z hodnotitelů neoznačil výrobek s náhradou tuku za senzoricky nepřijatelný, podobně jako popisuje Garcia-Garcia and Totosaus, 2008.

Obrázek 1: Výsledky senzorického hodnocení trvanlivého fermentovaného salámu – kontrolní vzorek



Obrázek 2: Výsledky senzorického hodnocení trvanlivého fermentovaného salámu – vzorek s náhradou tuku



Poděkování

Příspěvek byl zpracován s podporou institucionálního výzkumu VFU Brno.

Literatura

- Application Sub Note 3127 (2001). Extraction of fat in meat and meat products. Foss Tecator AB Sweden, 1.
- Gandemer G. (2002) Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science*, 62, 309 – 321.
- Garcia-Garcia E., Totosaus A. (2008) Low-fat sodium-reduced sausages: Effect of the interaction between locust bean gum, potato starch and k-carrageenan by a mixture design approach. *Meat Science*, 78, 406 – 413.
- Herrero A.M, Ordóñez J.A., Romero de Avila, Herranz B., Hoz L., Cambero M.I. (2007) Breaking strength of dry fermented sausages and their correlation with texture profile analysis (TPA) and physico-chemical characteristics. *Meat Science*, 77, 331 – 338.
- Liaros N.G., Katsanidis E., Bloukas J.G. (2009) Effect of ripening time under vacuum and packaging film permeability on processing and quality characteristics of lowfat fermented sausages. *Meat Science*, 83, 589 – 598.
- Mendoza E., García M.L., Casas C., Selgas M.D. (2001) Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausages. *Meat Science*, 57, 387 – 393.
- Muguerza E., Gimeno, O., Ansorena D., Bloukas J.G., Astiasarán I. (2001) Effect of replacing pork backfat with pre-emulsified olive oil on lipid fraction and sensory quality of Chorizo de Pamplona-a traditional Spanish fermented sausage. *Meat Science*, 59, 251 – 258.
- Muguerza E., Fista G., Ansorena D., Astiasarán I., Bloukas J.G. (2002) Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 61, 397–404.
- Olivares A., Navarro J.L., Salvador A., Flores M. (2010) Sensory acceptability of slow fermented sausages based on fat content and ripening time. *Meat Science*, 86, 251 – 257.
- Ščetar M., Kovačič E., Kurek M., Galic K. (2013) Shelf life of Packard sliced dry fermented sausage under different temperature. *Meat Science*, 93, 802 – 809.
- Válková V., Saláková A., Buchtová H., Tremlová B. (2007) Chemical, instrumental and sensory characteristics of cooked pork ham. *Meat Science*, 77, 608 – 615.
- Vyhláška MZe č. 326/2001 Sb. Sbírka zákonů 2001, part 126, p. 7414.
- Weiss J., Gibis M., Schul V., Salminen H. (2010) Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Science*, 86, 196 – 213.
- Wirth F. (1988) Technologies for making fat-reduced meat products. *Fleischwirtschaft*, 68 1153 – 1156.
- Zanardi M., Ghidini S., Battaglia A., Chizzolini R. (2004) Lipolysis and lipid oxidation in fermented sausages depending on different processing conditions and different antioxidants. *Meat Science*, 66, 415 – 423.

P 20**MASOVÉ KONZERVY BEZ DUSITANŮ**

Šimoniová A., Škorpilová T., Šíšová V., Rohlík B.-A., Pipek, P.

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

Abstrakt

Z hlediska dosažení žádoucího vybarvení masových konzerv a jako dodatečné opatření proti botulotoxinu je do díla masných výrobků přidáván dusitan sodný ve formě dusitanové solící směsi, na obale běžně označován symbolem E250. Ačkoliv je jeho přídavek i obsah regulován legislativou, v poslední době je snaha dusitan z výrobku odstranit, popřípadě jeho technologické vlastnosti nahradit jiným aditivem. Popud přichází hlavně ze strany spotřebitelů, kteří často z nevědomosti požadují potraviny bez „éček“.

Cílem studie bylo ověřit, zda je možné dusitan vynechat či nahradit pomocí jiných, zejména tzv. přírodních aditiv a zhodnotit vliv na vlastnosti masových konzerv. Byly vyrobeny tři partie konzerv „Vepřové maso ve vlastní šťávě“: s dusitanovou solící směsí, se solí bez přídavku dusitanů a s přídavkem preparátu na bázi kombuchy. Po zpracování a během skladování byl porovnáván vliv jednotlivých receptur na barvu, obsah dusitanů, oxidaci lipidů a senzorické vlastnosti masové konzervy.

V závislosti na typu přidané látky byly kromě různého obsahu dusitanů zjištěny rozdíly zejména v barvě a senzorické odchylky.

Úvod

Dusitany ve formě dusitanové solící směsi se do masových konzerv a masných výrobků přidávají nejen z hlediska dosažení spotřebiteli žádoucí růžové barvy, ale i pro udržení zdravotní nezávadnosti výrobku. Dusitany brání růstu klostridií a následně i tvorbě botulotoxinu, vazbou železa působí ve výsledku i proti oxidaci tuků. Antioxidační účinek a tvorba některých látek, jako jsou nitrosothioly, navíc přispívají k typické chuti masných výrobků (Pipek, 1998).

Samotné vynechání dusitanové solící směsi bez náhrady, snižování obsahu soli a další faktory mohou vést ke zvyšování rizika růstu *C. botulinum* a produkce jeho neurotoxinu. Současný trend spotřebitelů preferovat potraviny s nízkým obsahem soli, bez přídavných látek, či jen mírně tepelně ošetřené tak nutí výrobce toto riziko eliminovat jiným způsobem; je tedy potřeba zavést další antimikrobiální krok (Cui et al., 2010).

Jednou z možností je nahradit dusitany extrakty z přírodních látek, které neovlivňují technologické vlastnosti masové konzervy, ale svými antimikrobními účinky stejně jako dusitan zajišťují mikrobiologickou nezávadnost potraviny. V řadě případů však jde o podvod, kdy dusitany či dusičnany se skrývají v „přírodním extraktu“ z kořenové zeleniny.

Jinou možností může být preparát z kombuchy, což je symbiotická mikrobiální kultura sestávající z bakterie rodu *Acetobacter* a jedné nebo více kvasinek, většinou rodu *Saccharomyces*. Vzniká fermentací slazeného černého čaje. *Acetobacter* přeměňuje cukr na glukózu a fruktózu, glukóza je kvasinkami využita k tvorbě ethanolu a CO₂ a nebo přeměněna na glukónovou kyselinu (Greenwalt, 1998). Fruktóza přechází v octovou kyselinu, která stimuluje kvasinky k produkci ethanolu a ethanol na oplátku podporuje růst octových bakterií a následnou tvorbu octové kyseliny. Ethanol a octová kyselina mají antibakteriální účinky proti řadě patogenních bakterií, samotný fermentační proces mimo jiné indukuje tvorbu vitaminů skupiny B a kyseliny listové (Dufresne, 2000).

Cílem této studie bylo sledovat vliv přídavku preparátu z kombuchy a použití samotné NaCl na obsah dusitanů a na senzorické a technologické vlastnosti masové konzervy.

Materiál a metody

Pro analýzu bylo využito stávající receptury masové konzervy „Vepřové ve vlastní šťávě“ firmy PT Servis s.r.o. Byla porovnána běžná konzerva s přidavkem dusitanové solící směsi s konzervami, kde byla tato směs vynechána a nahrazena čistou solí nebo směsí soli a komerčního preparátu na bázi kombuchy (název ani výrobce záměrně neuvádíme).

Obsah reziduálních dusitanů

Obsah reziduálních dusitanů byl stanoven pomocí fotometrické metody Griesse-Illsovy, kdy dojde v prvním kroku po přidání Carrezových činidel k vysrážení přítomných bílkovin, které by mohly interferovat se spektrofotometrickým měřením, a poté se přidavkem činidel Griesse-Illsovy I a II vytvoří azobarvivo, které se následně spektrofotometricky měří při 525 nm. Pro srovnání byl obsah dusitanů stanoven i u čistých přípravků.

Thiobarbiturové číslo

Oxidace tuků byla hodnocena pomocí thiobarbiturového čísla po destilaci vzorku s vodní parou. Absorbance barevného produktu, vzniklého reakcí oxidačních produktů s kyselinou 2-thiobarbiturovou, byla změřena na spektrofotometru Thermo Scientific Evolution 60 při 538 nm.

Barva

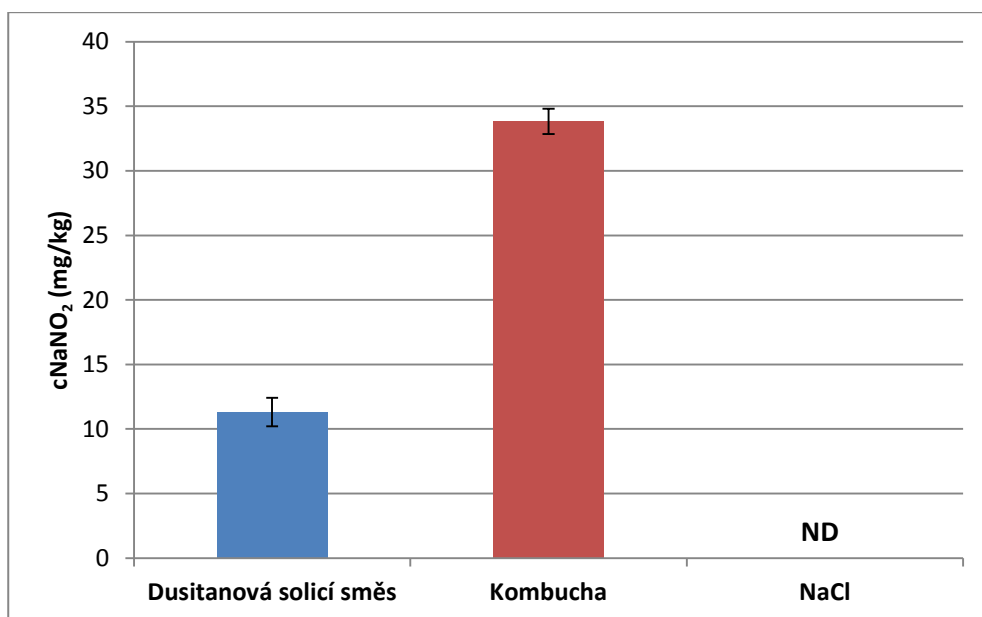
Barva byla měřena spektrofotometrem Minolta CM-2600d (Konica Minolta, Japan) a s využitím programu SpectraMagicNX byly získány hodnoty systému CIELab L*, a* a b*.

Senzorická analýza

Vyrobené konzervy byly senzoricky hodnoceny skupinou deseti hodnotitelů, kteří u všech vzorků posuzovali následující parametry: celkový vzhled, barvu, vůni, příjemnost vůně, přípachy, chuť, masovou chuť, slanou chuť a případné pachuti. Získané hodnoty byly zprůměrovány a zaneseny do paprskového grafu.

Výsledky a diskuze

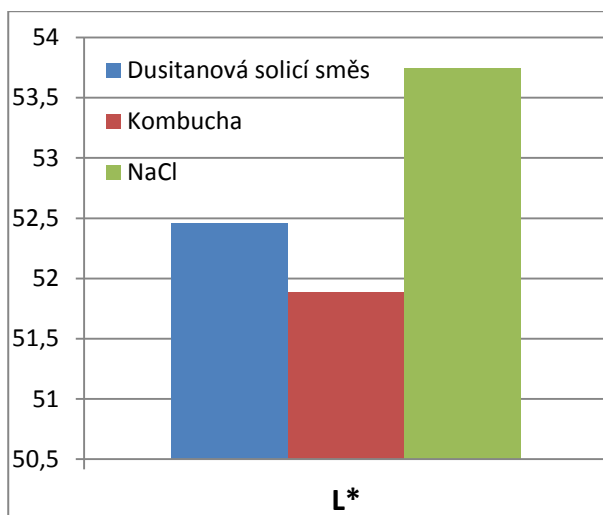
Dle očekávání byl reziduální obsah dusitanů nejnižší u vzorků ošetřených pouze NaCl, a to v mezi detekce. Nejvyšší obsah dusitanů byl naopak naměřen u vzorků s přípravkem z kombuchy; ačkoliv byl stále pod mezí povolenou legislativou, byl tento obsah až třikrát vyšší než u vzorků s dusitanovou solící směsí (**Graf 1**). Důvodem může být přirozený výskyt dusitanů v kombuše, která vzniká fermentací na slazeném černém čaji, jež je sám o sobě zdrojem dusíkatých látek, nebo byly dusitany (či dusičnany) přímo obsažené v čaji použitém pro fermentaci.



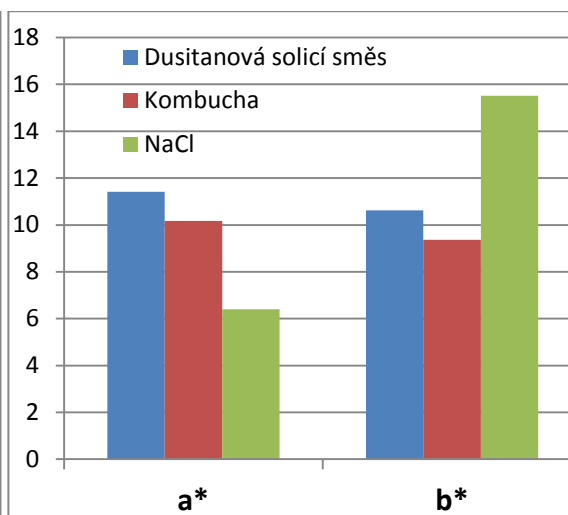
Graf 2 Obsah dusitanů v ošetřených vzorcích

Obsah malondialdehydu byl u všech tří ošetření podobný, s nepatrnými rozdíly a s nejstrměji stoupající tendencí u vzorků s NaCl.

U vzorků s dusitanovou solicí směsí a přípravkem z kombuchy bylo dosaženo žádoucí růžové barvy, u vzorku se solí byla barva šedohnědá, což naznačuje i **Graf 2 a 3**, kde má vzorek s obsahem NaCl nejvyšší světlost a zároveň nejnížší naměřenou hodnotu a^* , která vyjadřuje červenost vzorku.

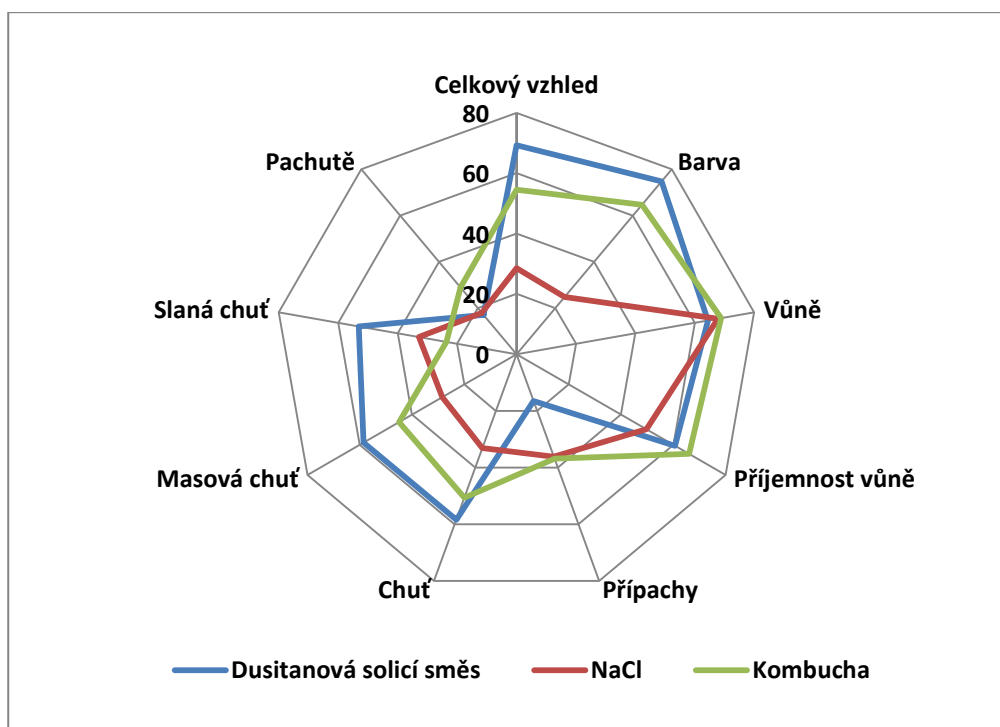


Graf 2 Měření barvy ošetřených vzorků – L*



Graf 3 Měření barvy ošetřených vzorků – a^* , b^*

Rozdíly byly patrné i z hlediska senzorického, kdy nejhůře byl hodnocen výrobek s NaCl a u výrobku ošetřeného preparátem z kombuchy byly zaznamenány cizí přípachy (**Graf 4**).



Graf 4 Sensorické hodnocení ošetřených vzorků

Závěr

Obsah reziduálních dusitanů byl nejnižší u vzorků s NaCl, který však nebyl sensoricky vyhovující, zejména s přihlédnutím na samotnou barvu masové konzervy. Vzorek s preparátem z kombuchy splňoval požadavky na barvu, vykazoval však nepatrné chuťové přípachy a především obsahoval vyšší množství dusitanů než standardní vzorek s dusitanovou solící směsí. Tento přípravek nemusí být sice označen na obalu E-kódem, ke snížení obsahu dusitanů ve výrobku však nedojde.

Výzkum byl financován z projektu MZe (NAZV) Q111B053.

Literatura

- Pipek P., Technologie masa II., Praha 1998, 1.vyd., ISBN 80-7192-283-8
 Cui H., Gabriel A.A., Nakano H., (2010), Antimicrobial efficacies of plant extracts and sodium nitrite against *Clostridium botulinum*, Food Control 21, 1030-1036.
 Greenwalt C.J., Ledford R.A., Steinkraus K.H., (1998), Determination and characterization of the antimicrobial activity of the fermented tea *Kombucha*, Lebensm.-Wiss. und Technol. 31, 291-296.
 Dufresne C., Farnworth E., (2000), Tea, Kombucha and health: a review, Food Research International 33, 409-421.

Sborník příspěvků
XLIII. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin

Vydala: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Technická 5, 166 28 Praha 6

Editoři: Karel Cejpek, Jindřich Špicner

Rok vydání: 2013

Počet stran: 196

Elektronická verze publikace ve formátu PDF.