

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

NKF 448/94

POTRAVINÁŘSKÉ VĚDY

FOOD SCIENCES

NÁRODNÍ KNIHOVNA



1002020033

1. listop. 1994

P II 273

1

K 11
A 1993
N 0232-0568

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD
SLOVENSKÁ AKADEMIA PŮDOHOSPODÁŘSKÝCH VIED



This journal is covered by Agrindex of FAO (AGRIS database), Food Science and Technology Abstracts, Dairy Science Abstracts, Chemical Abstracts, WLAS, TOXILINE PLUS and Czech Agricultural Bibliography.

REDAKČNÍ RADA — EDITORIAL BOARD

Předseda — Head of the Editorial Board

Ing. Zeno Šimůnek, CSc.

Členové redakční rady — Members of the Editorial Board

ing. Miloslav Adam, CSc., ing. Luisa Benešová, prof. ing. Dušan Čurda, CSc., prof. ing. Jiří Davídek, DrSc., ing. Jiřina Houšová, CSc., ing. Vladimír Hušek, CSc., prof. ing. Ivo Ingr, DrSc., ing. Milan Kováč, CSc., prof. ing. Jan Pokorný, DrSc., prof. ing. Alexander Příbela, DrSc., doc. ing. Mojmír Rychtera, CSc., MUDr. Bohumil Turek, CSc., ing. Jaroslav Vígner, CSc.

Vedoucí redaktorka — Editor-in-chief

RNDr. Marcela Braunová

© Institute of Agricultural and Food Information, Prague 1993

Potr. Vědy, 11, 1993 (1) : 1-80

CHROMATOGRAPHIC ANALYSES OF THE PRODUCTS FROM FATTY ACID DIMERIZATION

Ivo [†]ZEMAN, Walter SCHWARZ, Jiří BRÁT¹, Jiří ZAJÍC¹

SETUZA, a. s., Žukovova 100, CS-400129 Ústí nad Labem;

¹Institut of Chemical Technology, Technická 5, CS-166 28 Praha 6, Czech Republic

Polymerization of unsaturated fatty acids is an undesirable phenomenon in the production of edible oils, but a target process in the processing of oils for some technical products. In the present study some chromatographic techniques were compared, mainly HPLC and TLC-FID. By means of HPLC, using parallel detection in the UV region of spectrum in combination with refractometric detection, it was possible to gain more basic knowledge of the course of the reaction and of the composition of the final product. TLC-FID is a simpler and easier method, suitable for controlling the technical process of fatty acid polymerization.

dimerization; fatty acids; HPLC; TLC-FID; chromatography

For the analyses of reaction products from the processes of fatty acids dimerization and for the determination of dimers or other oligomers in the final products obtained by distillation, various separation methods were used: fractionation by molecular distillation, separation by simple column liquid chromatography in open systems (Frankell et al., 1961), paper chromatography (Rost, 1962), or TLC (Sen Gupta, Schermann, 1968). The simple GLC analysis with internal standard enabled a direct determination of monomer and dimer components only, whereas the temperature-programmed GLC (den Otter, 1970) was able to reach also the elution of trimer components, however under extreme high temperatures (above 350 °C). The GPC applications (Haken, Obita, 1981; Chang, 1968; Inoue et al., 1970; Harris et al., 1973) showed an acceptable separation of oligomers, nevertheless the time consumption for the analysis of one sample was too extensive unless microparticulate sorbent was used (Rao et al., 1989).

During last years, suitable HPLC procedures have been developed, applying normal (adsorption) chromatography for a convenient separation of oligomers in dimer fatty acids (DFA) using different sorbents with CN-bonded or NH₂-bonded phase (Zeman et al., 1986) or bare silica gel (Veazey, 1986) and eluents of different composition under isocratic or gradient elution under detection in UV, by refractometry or using FID. The introduction of the new, simple chromatographic technique combining TLC separation on silica-gel-coated



Chromarods with FID detection showed further convenient possibilities in DFA analysis (Fritz et al., 1988).

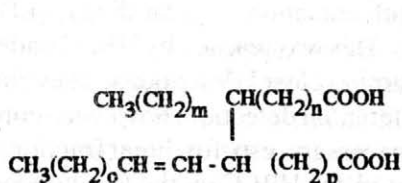
The comparison of various separation and detection techniques, classifying advantages and drawbacks of separate methods for DFA analysis, led to the following conclusions: in GLC separations, extreme high temperatures are necessary and DFA samples are to be derivatized to methyl esters; nevertheless, the instrumentation is available; in simple TLC separations, satisfying resolution and quantitative evaluation are difficult; HPLC separation in LSC and GPC variants with the use of different detection principles makes it possible to separate the oligomers in DFA samples according to the number of carboxyl group in the molecule or according to the molecular weight distribution with high efficiency under operating the separation and detection selectivity by the choice of sorbent, mobile phase composition and detection principle. Thus HPLC became an ideal means for research and investigation in the DFA synthesis and technology. On the other hand, the TLC-FID technique appeared as a reliable and powerful method suitable for the production control of extensive series of DFA samples, keeping the possibility of regulating the separation selectivity by means of mobile phase composition.

The differences found in the composition data by the different methods (GLC, GPC, HPLC, TLC-FID) are either limited or can be avoided by respecting the relative responses of the detectors used by appropriate correction factors.

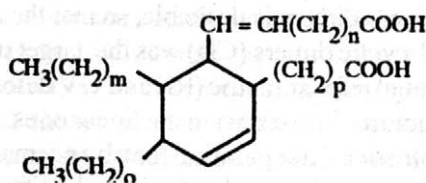
Problems constitution in the analysis reaction products of fatty acid dimerization

The complexity of products in unsaturated fatty acids dimerization is well known. The existence of the three main components in DFA, i.e. monomers, dimers and trimers (including traces of higher oligomers), is proved. It is common for the catalyzed reactions of fatty compounds at high temperature, where the fatty acid composition of original substances and the reaction conditions (catalyst, temperature, pressure, water, etc.) are determinant for the reaction mechanism and the composition of final products.

In the reaction mixture during the dimerization not only oligomers are formed, but there is also a change in the composition and structure of monomer fatty acids. The unsaturated fatty acids ($C_{18:1}$, $C_{18:2}$, $C_{18:3}$) are transformed to dimers by the Diels-Alder reaction, where linear and cyclic dimer acids are formed; in the monomer components it can be observed: double bonds shifting, conjugation and isomerization to trans-configuration as well as cyclization (Sebedio et al., 1987) and hydrocarbon chains branching between positions 7 and 13 (Haase, Lane, 1988). Since the saturated fatty acids ($C_{16:0}$ and $C_{18:0}$ predominantly) remain unchanged, their relative concentrations increase during the dimerization in the monomer fractions of DFA. Taking into account a decreasing relative



$$\text{LD: } m + n = 15; o + p = 13$$



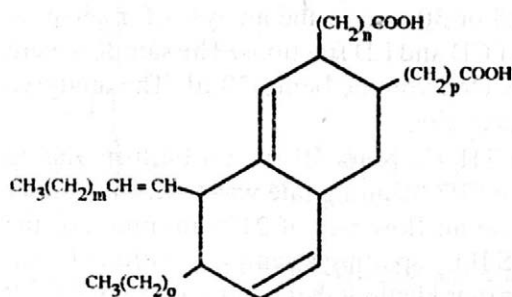
$$\text{CD II: } m + n = 12; o + p = 12$$

1. Structure of linear dimers

2. Structure of monocyclic dimers

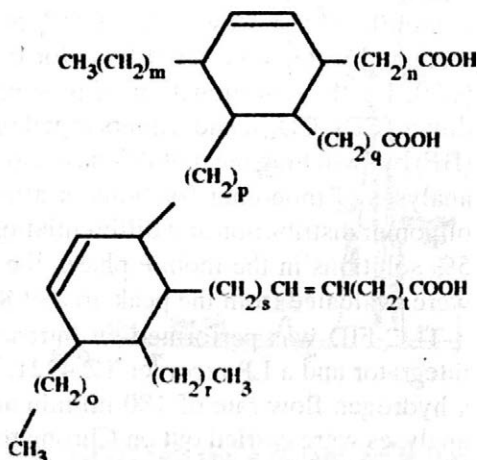
concentration of C_{18} unsaturated fatty acids, the composition of the monomer fraction can be investigated by both GLC and HPLC or by GLC after the hydrogenation; proving the presence of about 30 % branched C_{18} isomers and 20 to 30 % saturated acids, unreacted $\text{C}_{18:1}$ acid and its isomers resp.

In contrast to the monomers, the structure of the main oligomer products was determined, as indicated for linear dimers (Fig. 1), monocyclic dimers (Fig. 2), dicyclic dimers (Fig. 3), and trimers (Fig. 4), proved by MS and NMR (Jensen, Möller, 1986; Lawrence, Charbonneau, 1988). The presence of other structures in limited concentrations, however, cannot be excluded. Considering the various combinations of C-positions in dimerizing C_{18} molecules, hundreds of individual isomeric components can be present in DFA. It is evident that the determination of individual isomers cannot be performed by available analytical instrumentations. As indicated above, the separation to monomer, dimer and trimer fractions is however possible when using GLC, GPC, HPLC, and TLC-FID.



$$\text{CD I: } m + n = 10; o + p = 10$$

3. Structure of bicyclic dimers



$$\text{T: } m + n = 12; o + q + p = 10; r + s + t = 12$$

4. Structure of trimers

In the DFA production for various specific applications, the maximum concentration of linear dimers is desirable, so that the analytical differentiation of linear dimers (LD) and cyclic dimers (CD) was the target of our efforts. This was reached by HPLC under parallel refractometric (RI) and UV detection, presuming clear UV response of cyclic structures in contrast to the linear ones. For this differential detection, however, more sophisticated separation than by normal LSC was necessary, esp. for dimer fractions. This was achieved by the introduction of reversed-phase HPLC on the C₁₈-bonded phase using the methanol mobile phase with a trace addition of water. The analogous system with the higher addition of water can also be used for a better separation of fatty acids in the monomer fractions. In both cases, the back-flushing technique was applied for the displacement of trimers and higher oligomers in one peak, or for the elution of all oligomers together in the analyses for the detailed composition analyses of remaining monomer fatty acids.

In addition to some examples of applications of our RP-HPLC on C₁₈-phase with the combined the RI and UV detection for the dimerization process investigation and the analysis of final fractions, some TLC-FID separations are shown, comparing the chromatograms of final fractions isolated by the molecular distillation with the chromatograms of some commercial products.

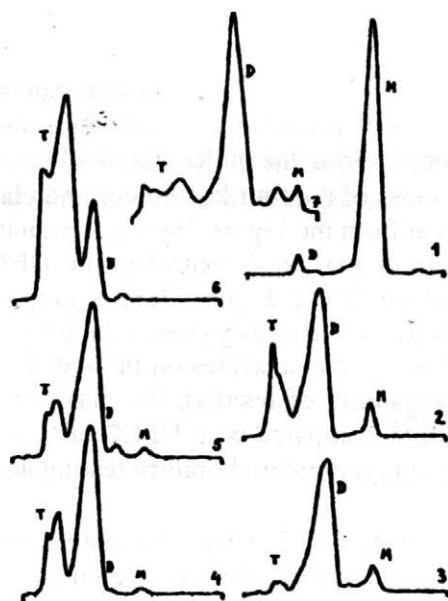
Operating conditions – The HPLC instrumentation was composed of the Knauer pump 52.00, sample introduction valve Rheodyne 7120, 6-way valve Rheodyne 7010 for switching the mobile phase flow direction in the column, combined RI and UV (258 nm) detector Knauer 61.00, and two-channel LP recorder TZ 4221 with an alternative recording on the Shimadzu CR-3-A integrator. The HPLC column was of 250x4.6 mm I.D. geometry packed by LiChrosorb RP-18, 10 µm, under a mobile phase flow rate of 0.8 ml/min. The composition of mobile phase methanol/water was 90:10 (v/v) for the analyses of monomer fractions, and 99:1 (v/v), for the determination of monomer fraction (M), linear dimer (LD), cyclic dimer (CD_I, CD_{II}), and trimers together with higher oligomers (T). The back-flush (BF) by switching the mobile phase direction was applied after 15 min in the detailed analyses of monomer fractions or after 25 or 30 min in the analyses for separate oligomer distribution and differentiation of CD and LD fractions. The samples were 5% solutions in the mobile phase, the injected volume being 20 µl. The analyses were evaluated from the peak area of RI detection.

TLC-FID was performed on Iatroscan TH-10, Mark III with a built-in analog integrator and a LP recorder TZ 4221. The FID scanning rate was 0.42 cm/s under a hydrogen flow rate of 180 ml/min and an air flow rate of 2100 ml/min. All the analyses were carried out on Chromarod S II by spotting a sample solution of 1 µl. The mobile phase composition was n-hexane/diethylether/acetic acid 95/2.1/2.9 (v/v/v). The results were evaluated from the area integrated peaks.

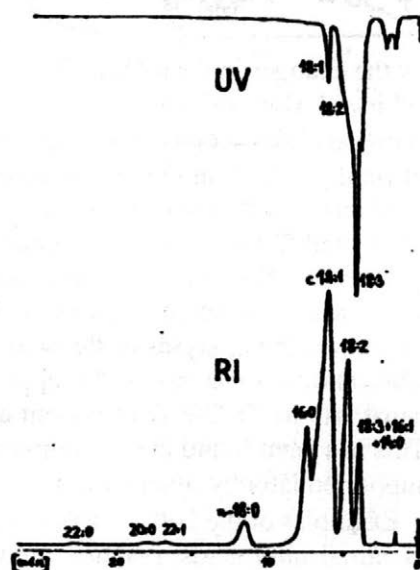
Samples – Various samples from the investigation of the reaction conditions for the dimerization of zero-erucic rapeseed fatty acids were analyzed by HPLC for the evaluation of reaction yields and kinetics as influenced by reaction time, temperature, pressure, catalyst nature and amount, water content, etc. Some selected fractions from the molecular distillation of these reaction mixtures were also analyzed, esp. for the composition of monomers in D_1 fractions, and of oligomers in D_2 fractions, and in distillation residues W_1 and W_2 . Some samples from the comparative experiments derived from fatty acids of olive and sunflower oil were also analyzed. Parallel analyses of these samples by TLC-FID were performed, and in addition, analyses of some commercial products of DFA for comparison (Empol 1018 and 1022, Pripol 1022 and 1040).

RESULTS and DISCUSSION

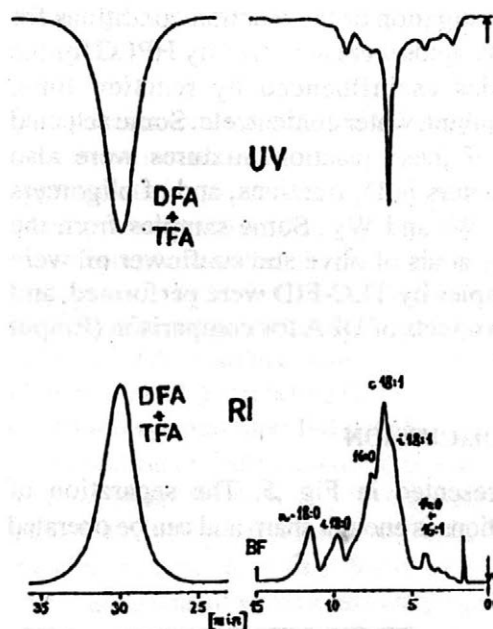
Examples of TLC-FID analyses are presented in Fig. 5. The separation of monomer (M), dimer (D) and trimer (T) fractions is enough sharp and can be operated



5. TLC-FID analyses of DFA fractions and some commercial products: 1 - D_1 fraction, 2 - W_1 fraction, 3 - D_2 fraction, 4 - Pripol 1022, 5 - Empol 1018, 6 - Pripol 1040, 7 - Empol 1022; M - monomers, D - dimers, T - trimers and higher oligomers



6. HPLC separation of fatty acids from rapeseed oil. Mobile phase was 90% methanol; UV-UV detection, RI-refractometric detection

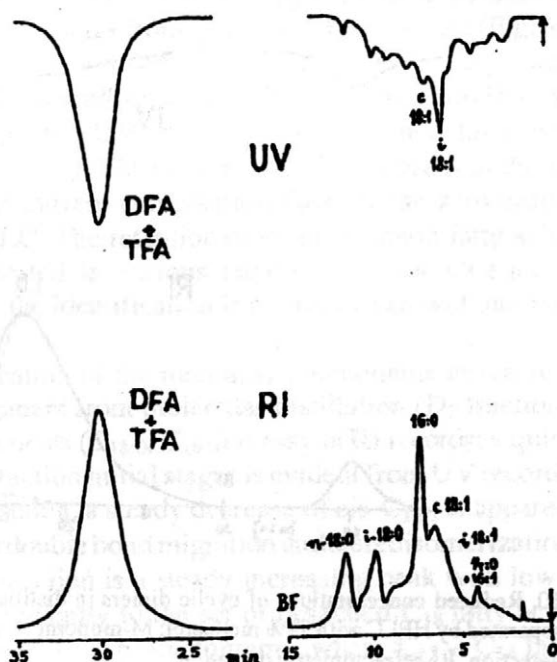


7. HPLC analyses of two subsequent stages of fatty acid dimerization, where $C_{18:2}$ and $C_{18:3}$ are not present, oleic acid ($C_{18:1}$) concentration is progressively reduced by dimerization, and saturated fatty acid ($C_{16:0}$, $C_{18:0}$) and branched acid ($i-C_{18}$) relative concentrations are increased. Dimers, trimers and other oligomers are eluted after back-flushing (BF) in one peak (DFA+TFA). Mobile phase was 90% methanol; UV-UV detection, RI-refractometric detection

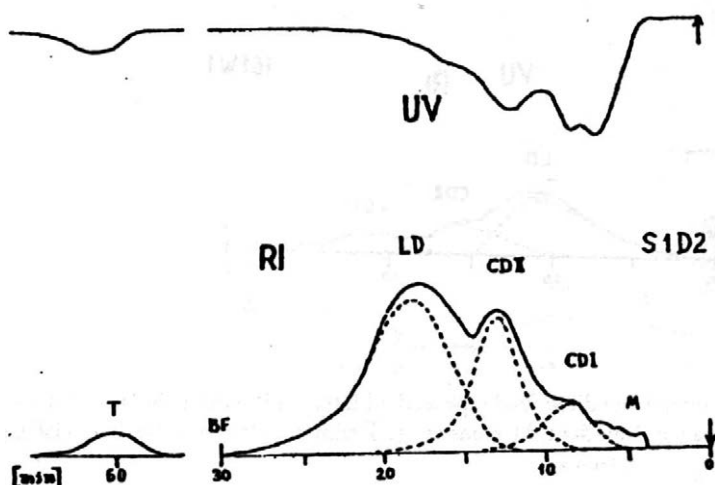
by the changes in the mobile phase composition. However, analogous results can be achieved also with the mobile phases composed of n-pentane, diethylether, and acetic acid. Recorded chromatograms of the samples from the molecular distillation of final products in Fig. 5 are compared with those of the four known commercial products of different compositions. As is evident from the Figure, the separation to M, D and T fractions is sufficient for the current analytical control in the DFA production. No derivatization is necessary and the TLC-FID procedure is simple; since many individual samples can be developed simultaneously even with three to five repeating analyses of the same sample (i. e. parallel analyses on three to five Chromarods for keeping the appropriate repeatability of results), the maximum capability of TLC-FID is evident as an advantage compared with HPLC or GLC. This has been found in our comparative study applying interlaboratory testing and supported later by other authors.

Examples of the HPLC analyses are shown in Figs. 6 - 13, where chromatograms of initial fatty acids, reaction mixtures and distillation fraction are presented. In nearly all the reaction mixtures, an increase of the component in the M fraction with reaction time is evident, corresponding to branches of C_{18} acids and simultaneously a decrease of unsaturated fatty acids caused by the forming of oligomers and partly by conversion to other monomer components under isomerization, conjugation or cyclization, as it is proved by various shapes of UV records. The more unsaturated components ($C_{18:2}$, and in particular $C_{18:3}$, acids) disappear quickly from the reaction

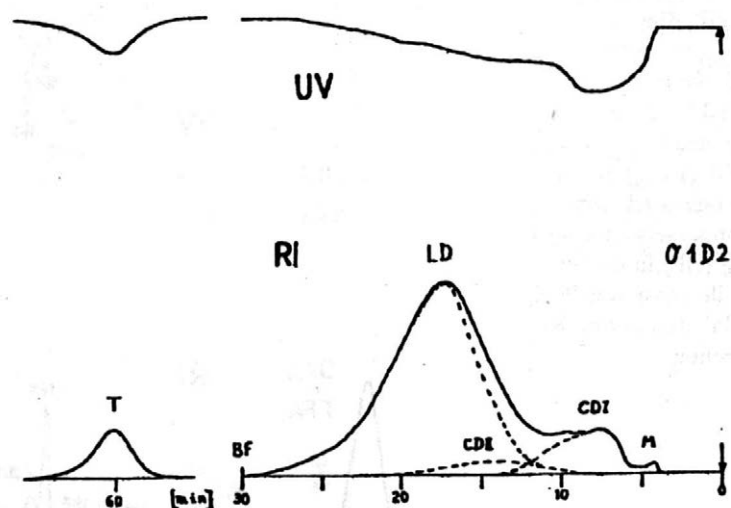
8. HPLC analyses of two subsequent stages of fatty acid dimerization, where $C_{18:2}$ and $C_{18:3}$ are not present, oleic acid ($C_{18:1}$) concentration is progressively reduced by dimerization and saturated fatty acid ($C_{16:0}$, $C_{18:0}$) and branched acid ($i-C_{18}$) relative concentrations are increased. Dimers, trimers and other oligomers are eluted after back-flushing (BF) in one peak (DFA+TFA). Mobile phase was 90% methanol; UV-UV detection, RI-refractometric detection



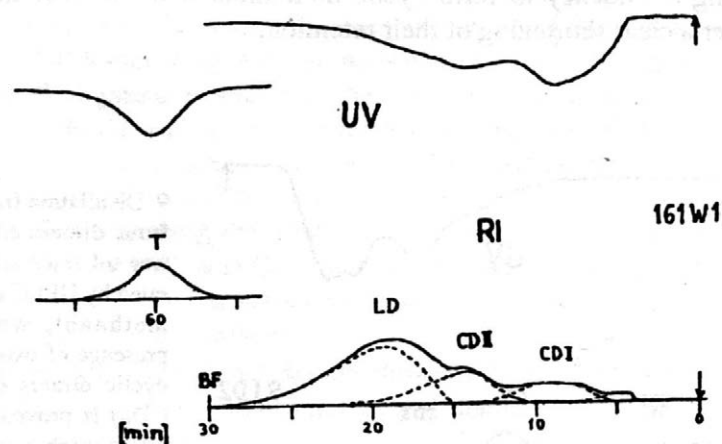
mixtures showing a tendency to form cyclic monomers with extreme high UV absorbance under a clear shortening of their retention.



9. Distillation fraction D_2 from dimerized sunflower oil fatty acid, separated by HPLC with 99% methanol, where the presence of two types of cyclic dimers (CD_I and CD_{II}) is proved by their UV absorbance in contrast to linear dimers (LD); M-monomers, T- trimers after backflushing (BF); UV-UV detection, RI-refractometric detection



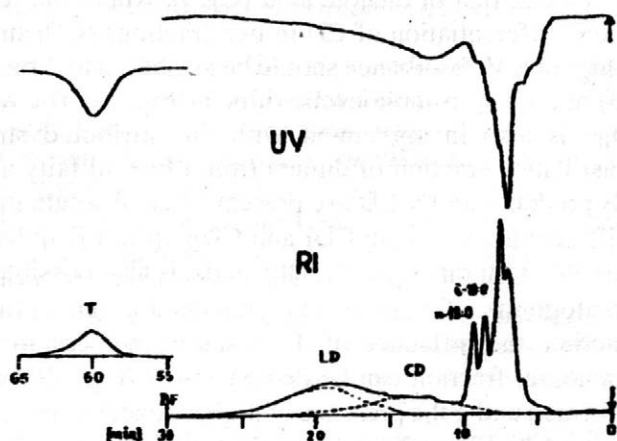
10. Reduced concentrations of cyclic dimers in distillation fraction D_2 from olive oil fatty acids, separated by HPLC with 99% methanol; M-monomers, T-trimers after back-flushing (BF); UV-UV detection, RI-refractometric detection



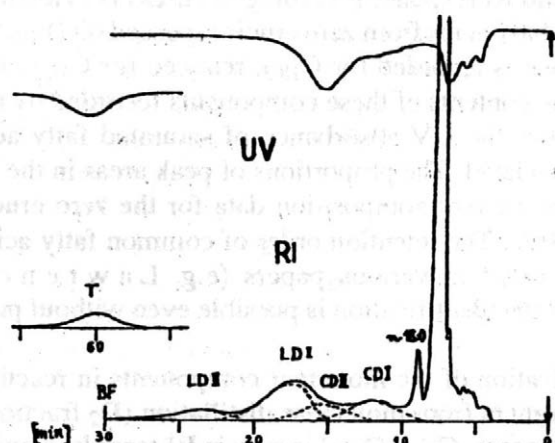
11. HPLC separation of W_1 fraction from dimerized rapeseed oil fatty acids, where the presence of cyclic dimers with high absorbance is evident; M-monomers, T-trimers after back-flushing (BF); UV-UV detection, RI-refractometric detection

The advantage of the parallel UV and RI response recording in HPLC is evident in the analysis of the initial mixture of fatty acids from zero erucic rapeseed oil (Fig. 6), where the maximum UV absorbance is recorded for $C_{18:3}$, reduced for $C_{18:2}$, and very limited for $C_{18:1}$, while the true contents of these components recorded by the RI detection are in the inverse ratio; the UV absorbance of saturated fatty acid components is - as expected - at zero level. The proportions of peak areas in the RI detection are in agreement with the current composition data for the zero erucic rapeseed fatty acids analyzed by GLC. The retention order of common fatty acids in the RP-HPLC analyses is indicated in various papers (e.g. Lawrence, Chabonneau, 1988), so that the identification is possible even without pure standards.

More complicated is the identification of the monomer components in reaction mixtures and in concentrated monomers from molecular distillation (D_2 fraction). The identification of saturated components ($C_{18:0}$, $C_{16:0}$) is easy in RI records; a quick disappearance of $C_{18:3}$ and $C_{18:2}$ at reaction initial stages is evident from UV records. In the course of the dimerization reaction, a steady decrease of $cis-C_{18:1}$ is apparent under its peak broadening caused by double bond migration and stereoisomerization. A typical phenomenon during the reaction is a steady increasing peak with lower retention for $C_{18:0}$, corresponding evidently to the set of branched C_{18} fatty acids (Figs. 7 and 8). The initial parts of HPLC chromatograms, where $C_{12} - C_{14}$ fatty acids have their retention area, shows an increased UV absorption of some samples: this could be explained by the presence of monomer acids with cyclic structures



12. Composition of reaction mixtures in the study of temperature influence; T-trimers. For description see Fig. 7



13. Composition of reaction mixtures in the presence of higher water additions; T-trimers. For description see Fig.7

because their retention in RP-HPLC must be evidently shorter than that of the initial C_{18} straight chain dienoic or trienoic acids.

The estimation of cyclic dimer (CD) proportions in the chromatograms of reaction mixtures and distillation fractions was based on the presumption that linear dimers (LD) had nearly zero UV absorbance in contrast to CD. UV detection records are thus decisive for the differentiation of CD and LD peaks in RI detection records where an incomplete separation of CD and LD took place. This is evident in Fig. 9, where the analysis of distillation dimer fraction D_2 is recorded, prepared from sunflower oil fatty acid, rich in dienoic acid ($C_{18:2}$), where the forming of CD is promoted: even the differentiation of CD in two fractions (CD_I and CD_{II}) is clear, where CD_I with higher UV absorbance should be attributed to dimers with two-ring structure (Fig. 3) and CD_{II} to monocyclic dimers (Fig. 2). The relative retention of CD_I and CD_{II} is also in agreement with the attributed structures. In the corresponding distillation fraction of dimers from olive oil fatty acids, containing monoenoic acids predominantly, LD are present as an absolute major component (Fig. 10). The differentiation of both CD_I and CD_{II} from LD in the main enriched fraction of dimers W_1 from rapeseed oil fatty acids, is also possible (Fig. 11).

On the chromatograms of various experiments for the optimization of the dimerization reaction, the influence of the reaction temperature of C_{18} isomers formed in the monomer fraction can be demonstrated (Fig. 12) in contrast to the experiments performed under the presence of higher concentrations of water, where the oligomer forming and branching isomerization is limited (Fig. 13). Another interesting discovery is that in monomer distillation fractions D_1 , the trace dimer content is represented by CD only: this is in correspondence with the presumed higher relative volatility of CD compared with LD.

CONCLUSION

As it is evident from the chromatographic data of the contents of separate components, various further discoveries can be deduced, important for a better recognition of various reactions in the unsaturated fatty acid dimerization process and for the optimization of reaction conditions. Though HPLC has shown more basic knowledge, it is for its particularity less suitable for the plant analytical control than the simple TLC-FID procedure on the Iatroscan instrument enabling the analysis of more samples in the same span than HPLC.

References

- OTTER, M. J. A. den: The dimerization of oleic acid with a Montmorillonite catalyst. I. Important process parameters; Some main reactions. *Fette, Seifen, Anstrichm.*, 72, 1970 : 667-673.
- FRANKEL, E. N. - EVANS, C. D. - MOSER, H. A. - McCONNELL, C. G. - COWAN, J. C.: Analyses of lipids and oxidation products by partition chromatography. Dimeric and polymeric products. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 38, 1961 : 130-134.
- FRITZ, D. W. - AMORE, F. - RASHMAWI, K.: Analysis of dimerized fatty acids by TLC/FID. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 65, 1988 : 1488-1492.
- HAASE, K. D. - LAANE, N. C. M.: Zusammensetzung und Anwendungen von Isostearinsäure. *Fat Sci. Technol.*, 90, 1988 : 426-426.
- HAKEN, J. K. - OBITA, J. A.: Analysis of resinous or fatty polyamides using Gas and Gel Permeation Chromatography. *J. Chromatogr.*, 213, 1981 : 55-62.
- HARRIS, W. C. - CROWELL, E. P. - BURNETT, B. B.: Quantitative analysis of polymerized fatty acids using Gel Permeation Chromatography. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 50, 1973 : 537-539.
- CHANG, T. L.: Analysis of tall oil by Gel Permeation Chromatography. *Anal. Chem.*, 40, 1968 : 989-992.
- INOUE, H. - KONISHI, K. - TANIGUCHI, N.: Analysis of thermal polymeric fatty acids, methyl esters and alcohols on Sephadex LH-20. *J. Chromatogr.*, 47, 1970 : 348-354.
- JENSEN, O. N. - MØLLER, J.: Dimer and trimer fatty acids in feed fats characterized by HPLC-GPC and MS. *Fette, Seifen, Anstrichm.*, 88, 1986 : 352-357.
- LAWRENCE, J. F. - CHARBONNEAU, C. F.: Direct, sensitive and selective detection of free fatty acids by High-Performance Liquid Chromatography with Post-Column Ion-Pair Extraction and Absorbance Detection. *J. Chromatogr.*, 445, 1988 : 189-197.
- RAO, T. CH. - KALE, V. - VIJAYALAKSHMI, P. - GANGADHAR, A. - SUBBARAO, R. - LAKSHMINARAYANA, G.: Chromatographic methods for the determination of monomer, dimer and trimer fractions in dimer fatty acids. *J. Chromatogr.*, 466, 1989 : 403-406.
- ROST, H. E.: Methode zur Bestimmung dimerer Säuren in Ölen und Fetten. *Fette, Seifen, Anstrichm.*, 64, 1962 : 427-433.
- SEN GUPTA, A. K. - SCHARMANN H.: Untersuchungen über die Struktur dimerer Fettsäuren II.: Herstellung und Strukturaufklärung von Diels-Alder-Dimeren aus 9^t, 11^t-Octadecadiensäuremethylester. *Fette, Seifen, Anstrichm.*, 70, 1968 : 86-90.

SEBEDIO, J. L. - PREVOST, J. - GRANDGIRARD, A.: Heat treatment of vegetable oils I. Isolation of the cyclic fatty acid monomers from heated sunflower and linseed oils. J. Am. Oil Chem. Soc., 64, 1987 : 1026-1032.

VEAZEY, R. L.: Rapid analysis of dimer acid by HPLC/FID. J. Am. Oil Chem. Soc., 63, 1986 : 1043-1046.

ZEMAN, I. - RANNÝ, M. - WINTEROVÁ, L.: Chromatographic analysis of fatty acids dimers comparison of Gas-Liquid Chromatography, High-Performance Liquid Chromatography and Thin-Layer Chromatography with Flame Ionization Detection. J. Chromatogr., 354, 1986 : 283-292.

Received for publication April 13, 1992

I. Zeman,[†] W. Schwarz, J. Brát, J. Zajíc (SETUZA, a. s., Ústí nad Labem;
Vysoká škola chemickotechnologická, Praha)

Chromatografické analýzy produktů z polymerace mastných kyselin

Polymerace nenasyčených mastných kyselin je v oblasti výroby potravinářských olejů nežádoucím jevem a naopak cíleným procesem při zpracování olejů na některé technické výrobky. Proto již delší dobu věnuje řada odborníků pozornost kromě technologickým stránkám procesu i analytickému sledování polymerace jak z pohledu kvalitativního, tak i kvantitativního. V předložené práci byly porovnávány některé chromatografické techniky především HPLC a TLC-FID. Základní parametry HPLC byly dány kolonou s LiChrosorb RP-18 a mobilními fázemi methanol/voda 90/10 (v/v) pro analýzu monomerů a 99/1 pro stanovení dimerů, trimerů a oligomerů. Při použití TLC-FID byla kolona plněna Chromarodem SII a mobilní fázi tvořila směs n-hexan/diethylether/kyselina octová 95/2,1/2,9 (v/v/v). Paralelní detekce v UV oblasti spektra v kombinaci s refraktometrií při použití HPLC umožňuje rozlišit lineární a cyklické dimery. Při polymeraci mastných kyselin olivového oleje s dominantní mastnou kyselinou - kyselinou olejovou vznikají především lineární dimery. Při polymeraci mastných kyselin slunečnicového a řepkového oleje se tvoří cyklické dimery s význačnou složkou dicyklické struktury vedle monocyklických monomerů.

Ze srovnání analytických výsledků obou použitých chromatografických technik vyplývá, že HPLC poskytuje více základních poznatků o průběhu reakce a složení výsledného produktu než TLC-FID. Ta je ovšem jednodušší a snazší metodou pro kontrolu technologického procesu polymerace mastných kyselin.

polymerace; mastné kyseliny; HPLC; TLC-FID; chromatografie

ZÁVISLOST POČTU MEZOFILNÍCH A PSYCHROTROFNÍCH BAKTÉRIÍ U VZORKŮ Z PRVOVÝROBY MLÉKA

Eva URBANOVÁ, Jana VYHNÁLKOVÁ, Milena MALÍKOVÁ

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

Celkový počet mikroorganismů a počet psychrotrofních bakterií byl testován ve třech souborech vzorků syrového kravského mléka a ve čtyřech souborech vzorků získaných při kontrole sanitačních režimů v prvovýrobě mléka. Bylo prokázáno, že existuje vztah mezi oběma veličinami (celkový počet a počet psychrotrofních mikroorganismů). Vzájemný stupeň závislosti byl u většiny souborů statisticky významný ($P = 0,01$)

psychrotrofní bakterie; mezofilní bakterie; syrové mléko; stěry dojícího zařízení; korelační koeficient

Přestože zemědělská prvovýroba u nás prochází složitým obdobím, nezbytným požadavkem kontrolních orgánů, ale i zpracovatelských závodů a podniků musí být kvalita vyprodukované suroviny. V plné šíři to platí i o syrovém kravském mléce, které, jak uvádí S l a n e c (1990), zůstává ve veterinárně hygienickém dozoru slabým místem a norma ČSN 57 0529 nesplňuje podmínky pro další zlepšení jakosti nakupované suroviny. V současné době probíhá v ČR revize stávající normy v souvislosti s přípravou koncesních podmínek pro výrobce mléčné suroviny. K a d l e c (1990) podmiňuje revizi vazbou na požadavky mezinárodního odboru a doručuje zaměřit se v oblasti mikrobiální kvality mléka na hygienickou jakost z hlediska CPM, termorezistentních a psychrotrofních bakterií a vzájemných vazeb mezi nimi. H a v l o v á, C v a k (1990) a H e r i a n (1990) potvrzují, že k prognóze chování mléka při technologických procesech a trvanlivosti z něj vyrobených produktů je důležitým ukazatelem počet psychrotrofních bakterií. Souvisí to především se zavedením rozsáhlého systému chlazení v prvovýrobě mléka při jeho zpracování i skladování výrobků.

V dosavadní praxi poskytuje celkovou charakteristiku hygienické úrovně prvovýroby mléka především počet mezofilních mikroorganismů označovaných jako CPM a počet koliformních bakterií jako indikátor tzv. fekálního znečištění. Význam sledování počtu koliformních bakterií jako kritéria pro riziko přítomnosti enteropatogenních kmenů je podle řady autorů (např. R e d y et al., 1984) minimální a jak uvádějí H a v l o v á a C v a k (1990), ve většině zemí se

nepoužívá. Stejně tak hraniční hodnoty bakteriálních kontaminant pro jakostní skupiny jsou ve všech evropských zemích podstatně nižší než u nás.

Chladírenská technika v celém procesu získávání a zpracovávání mléka zvýšila významnost přítomné psychrotrofní mikroflóry, neboť tato se může v nízkých teplotách aktivně množit. Prodloužená doba skladování syrového mléka před pasterizací vede k rozvoji počtu psychrotrofních lipolytických a proteolytických bakteriálních kmenů, které produkcí svých enzymů způsobují neodstranitelné změny a poškození mléka, projevující se obtížemi v technologickém procesu zpracování suroviny i v jakosti mléčných výrobků. Vzhledem k těmto skutečnostem a znalostem svozných režimů našich mlékáren, kdy probíhá dlouhodobé chlazení již na farmách, věnovali jsme psychrotrofním kontaminantům pozornost již v předchozích letech (Malík *et al.*, 1986, 1988; Urbán *et al.*, 1988). Při zpracování v mlékárnách pak z technologických i ekonomických důvodů je syrové mléko rovněž skladováno (Gajdůšek, Kuběnová, 1987), což opět zvyšuje technologická rizika.

Předkládaná práce je zaměřena na zhodnocení významu stanovení psychrotrofních kontaminant ve vztahu k CPM.

MATERIÁL a METODY

Byly hodnoceny tři soubory (1M, 2M, 3M) stanovení celkových počtů mikroorganismů (CPM) a počtů psychrotrofních bakterií (PP) v syrovém kravském mléce a čtyři soubory (1S, 2S, 3S, 4S) těchto hodnot získaných při kontrole sanitačních režimů v prvovýrobě mléka. Stanovení CPM bylo provedeno podle ČSN 57 0101. Počet psychrotrofních kontaminant byl stanoven na maso-peptonovém agaru (MPA) s 1% laktosou po inkubaci při 7 °C po 10 dní (Holc, 1983). U všech souborů byl stanoven korelační koeficient (r) jako míra korelace mezi získanými hodnotami obou testů (Matoušková, Cigler, 1990), aby byla či nebyla prokázána existence jejich vzájemné závislosti.

VÝSLEDKY

V prvním souboru (1M) bylo hodnoceno 93 vzorků syrového mléka z úchovných nádrží zemědělských farem získaných při mapování úrovně nasávací oblasti závodu KDV Zábřeh na Mor. Hodnoty CPM se pohybovaly od min. $5,0 \cdot 10^3$ do max. $3,5 \cdot 10^7$, hodnoty PP od min. $<10^2$ do max. $2,8 \cdot 10^6$. U 32 vzorků (34,4%) byly hodnoty CPM a PP na stejné hladině kontaminace, vyšší hodnoty CPM než PP byly u 48 vzorků (51,6%) - tab. I. Korelační koeficient je $r = 0,096 < r_p = 0,2172$, což naznačuje, že mezi hodnotami CPM a PP v tomto souboru nebyla zjištěna statisticky významná závislost.

V druhém souboru (2M) bylo hodnoceno 41 vzorků syrového mléka z úchovných nádrží zemědělských farem nasávací oblasti závodu KDV po zavedení nápravných opatření v prvovýrobě mléka, k zvýšení jeho mikrobiologické jakosti. Hodnoty CPM se pohybovaly od min. $3,0 \cdot 10^4$ do max. $3,7 \cdot 10^7$, hodnoty PP od min. $3,5 \cdot 10^2$ do $5,7 \cdot 10^6$. U 18 vzorků (43,9%) byly hodnoty CPM a PP na stejné hladině kontaminace, vyšší hodnoty CPM než PP byly u 23 vzorků (56,1 %). Korelační koeficient je $r = 0,980$, což naznačuje vysokou závislost mezi hodnotami CPM a PP v tomto souboru. Porovnáním s tabulkovou hodnotou r_p pro hladinu významnosti $P = 0,01$ získáme $r = 0,980 > r_p = 0,4182$. Tento výsledek prokazuje statistickou závislost při dané hladině významnosti.

I. Porovnání úrovně CPM a PP stanovených ve vzorcích syrového mléka - Comparison of the CPM and PP levels determined in fresh milk samples

Číslo souboru ¹	Počet testovaných vzorků ²	Shodná úroveň CPM a PP ³		Vyšší úroveň CPM než PP ⁴		Vyšší úroveň PP než CPM ⁵	
		počet vzorků ⁶	[%]	počet vzorků	[%]	počet vzorků	[%]
1M	93	32	34,4	48	51,6	13	14,0
2M	41	18	43,9	23	56,1	0	0
3M	89	35	39,3	51	57,3	3	3,4
Celkem ⁷	223	85	38,1	122	54,7	16	7,2

Platí pro tab. I a II - Holds for Tables I and II:

CPM = celkový počet mikroorganismů - total count of microorganisms

PP = počet psychrotrofních mikroorganismů - count of psychrotrophic microorganisms

¹ number of set, ² count of samples tested, ³ equivalent level of CPM and PP, ⁴ higher level of CPM than of PP, ⁵ higher level of PP than of CPM; ⁶ count of samples, ⁷ total

Ve třetím souboru (3M) bylo hodnoceno 89 vzorků syrového mléka z úchovných nádrží zemědělských farem nasávací oblasti Brna. Hodnoty CPM se pohybovaly od min. $2,0 \cdot 10^4$ do max. $1,8 \cdot 10^7$, hodnoty PP od min. $1,0 \cdot 10^3$ do max. $6,2 \cdot 10^6$. U 35 vzorků (39,3%) byly hodnoty CPM a PP na stejné hladině kontaminace, vyšší hodnoty CPM byly u 51 vzorků (57,3%). Korelační koeficient je $r = 0,938$, což naznačuje vysokou závislost mezi hodnotami CPM a PP v tomto souboru. Porovnáním s tabulkovou hodnotou r_p pro hladinu významnosti $P = 0,01$ získáme $r = 0,938 > r_p = 0,2830$. Tento výsledek prokazuje statistickou závislost při dané hladině významnosti.

Stejně tak byly hodnoceny čtyři soubory výsledků CPM a PP získané z depistážních stěrů dojicího zařízení (strukový násadec, hadice, resp. spoj před pulsátorem, přepouštěcí hadice, resp. trubka, úchovná nádrž, vpust do přečerpávací

nádoby v dojárně, plovák v přečerpávací nádrži v mléčnici), jimiž byla hodnocena úroveň kontaminace před čištěním a po čištění a sanitaci.

V prvním souboru (1S) bylo hodnoceno 24 vzorků stěrů před sanitací dojícího zařízení v zemědělských farmách nasávací oblasti KDV Zábřeh na Mor. po zavedení nápravných opatření v prvovýrobě mléka. Hodnoty CPM se pohybovaly od min. $5,0 \cdot 10^2$ do max. $5,0 \cdot 10^6$, hodnoty PP od min. 0 do max. $5,0 \cdot 10^6$. U devíti vzorků (37,5 %) byly hodnoty CPM a PP na stejné hladině kontaminace, vyšší hodnoty CPM byly u 12 vzorků (50,0 %) - tab. II. Korelační koeficient je $r = 0,600$, což naznačuje závislost mezi hodnotami CPM a PP v tomto souboru. Porovnáním s tabulkovou hodnotou r_p pro hladinu významnosti $P = 0,01$ získáme $r = 0,600 > r_p = 0,5368$. Tento výsledek prokazuje statistickou závislost při dané hladině významnosti.

V druhém souboru (2S) bylo hodnoceno 23 vzorků stěrů po sanitaci dojícího zařízení, které bylo testováno v předešlém souboru. Hodnoty CPM se pohybovaly od min. $1,0 \cdot 10^1$ do max. $5,0 \cdot 10^5$, hodnoty PP od min. 0 do max. $5,0 \cdot 10^5$. U 15 vzorků (65,2 %) byly hodnoty CPM a PP na stejné hladině kontaminace, vyšší hodnoty CPM byly u šesti vzorků (26,1 %). Korelační koeficient je $r = 0,755$, což naznačuje závislost mezi hodnotami CPM a PP v tomto souboru. Porovnání s tabulkovou hodnotou r_p pro hladinu významnosti $P = 0,01$ získáme $r = 0,755 > r_p = 0,5368$. Tento výsledek prokazuje statistickou závislost při dané hladině významnosti.

II. Porovnání úrovně CPM a PP stanovených ze vzorků stěrů dojícího zařízení (50 cm²) - Comparison of the levels of CPM and PP determined from samples of scrapings from milking machine (50 square cm)

Číslo souboru ¹	Počet testovaných vzorků ²	Shodná úroveň CPM a PP ³		Vyšší úroveň CPM než PP ⁴		Vyšší úroveň PP než CPM ⁵	
		počet vzorků ⁶	[%]	počet vzorků	[%]	počet vzorků	[%]
1S	24	9	37,5	12	50,0	3	12,5
2S	23	15	65,2	6	26,1	2	8,7
3S	19	14	73,7	5	26,3	0	0
4S	22	11	50,0	8	36,4	3	13,6
Celkem ⁷	88	49	55,7	31	35,2	8	9,1

Ve třetím souboru (3S) bylo hodnoceno 19 vzorků stěrů před sanitací dojícího zařízení v rybinové dojárně VKK Maletín. Hodnoty CPM se pohybovaly od min. $5,0 \cdot 10^2$ do max. $2,6 \cdot 10^7$, hodnoty PP od min. $5,0 \cdot 10^1$ do max. $5,0 \cdot 10^7$. U 14 vzorků (73,7 %) byly hodnoty CPM a PP na stejné hladině kontaminace, vyšší hodnoty CPM byly u pěti vzorků (26,3 %). Korelační koeficient je $r = 0,688$, což naznačuje závislost mezi hodnotami CPM a PP v tomto souboru. Porovnáním s tabulkovou

hodnotou r_p pro hladinu významnosti $P = 0,01$ získáme $r = 0,688 > r_p = 0,5751$. Tento výsledek prokazuje statistickou závislost při dané hladině významnosti.

Ve čtvrtém souboru (4S) bylo hodnoceno 22 vzorků stěrů po sanitaci dojícího zařízení VKK Maletín. Hodnoty CPM se pohybovaly od min. 0 max. $1,1 \cdot 10^6$, hodnoty PP od min. 0 do max. $5,0 \cdot 10^5$. U 11 vzorků (50,0 %) byly hodnoty CPM a PP na stejné hladině kontaminace, vyšší hodnoty CPM byly u osmi vzorků (36,4 %). Korelační koeficient je $r = 0,675$, což naznačuje závislost mezi hodnotami CPM a PP v tomto souboru. Porovnáním s tabulkovou hodnotou r_p pro hladinu významnosti $P = 0,01$ získáme $r = 0,675 > r_p = 0,5368$. Tento výsledek prokazuje statistickou závislost při dané hladině významnosti.

ZÁVĚR

Při celkovém hodnocení lze říci, že byla prokázána vzájemná korelace mezi stanovením CPM a PP, a to u většiny testovaných souborů statisticky významná. Souvislost mezi nálezy CPM a počtem psychrotrofních kontaminantů v syrovém mléce byla dokumentována i v literatuře (Cousin, 1982; Pešek, Závodský, 1986). Malíková et al. (1986) pozorovali závislost mezi počty CPM a psychrotrofními pouze u mléka s výběrovou kvalitou, tedy mléka s nízkým zastoupením kontaminující mikroflóry, kdežto u ostatních jakostních tříd výsledky průkazné nebyly.

Výsledky této práce naznačují, že jak CPM, tak počet psychrotrofních kontaminantů mohou být ekvivalentním kritériem pro zařazení syrového mléka do jakostní třídy. Vzhledem k používané chladicí technice při sběru, svozu, skladování a distribuci, kdy jsou příznivé podmínky pro růst a pomnožení především psychrotrofní mikroflóry, mělo by být prioritní kritérium jejich úrovně. Tento požadavek je ve shodě s dalšími našimi autory (Kadlec, 1990; Havlová, Cvak, 1990), kteří požadují při současné revizi ČSN 57 0529 zohlednit význam psychrotrofní mikroflóry pro technologickou hygienickou jakost suroviny.

Literatura

- COUSIN, M. A.: Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: A review. J. Fd Protect., 45, 1982 : 172-207.
- GAJDŮŠEK, S. - KUBĚNOVÁ, I.: Vliv podmínek skladování mléka na jeho vhodnost pro výrobu sýrů. Potrav. Vědy, 5, 1987 : 119-124.
- HAVLOVÁ, J. - CVAK, Z.: Nové směry v metodách hodnocení syrového mléka v ČSFR. Prům. Potr., 41, 1990 : 633.81-633.83.
- IIERIAN, K.: Tendencie výroby kyslomliečnych výrobkov. Prům. Potr., 41, 1990 : 79.1-81.3
- HOLEC, J. a kol.: Návod k praktickým cvičením z hygieny mléka a mléčných výrobků, Brno, Ed. Stř. VŠV 1983 : 206 s.
- KADLEC, I.: Jakost syrového kravského mléka vzhledem k vývozu mléka a mlékárenských výrobků. Prům. Potr., 41, 1990 : 189.17-192.20



MALÍKOVÁ, M. - URBANOVÁ, E. - VYHNÁLKOVÁ, J. - RŮŽIČKOVÁ, V. - BARTOŠ, J. - NEUMANNOVÁ, M. - RYŠÁNEK, D. - PALÁSEK, J. - JANKOVÁ, B. - TICHÁČEK, A. - VANĚK, J.: Veterinárně hygienické podmínky při technologii výroby výběrového mléka v nasávací oblasti nového KDV v Záhřebu na Mor. [Výzkumná zpráva.] Brno, VÚVeL 1986 : 47 s.

MALÍKOVÁ, M. - VYHNÁLKOVÁ, J. - URBANOVÁ, E. - RŮŽIČKOVÁ, V. - GAJDUŠKOVÁ, V. - MAŠEK, J. - JANKOVÁ, B. - TICHÁČEK, A. - PELIKÁN, J. - DROZD, P. - SMÉKAL, L. - GRULICH, J.: Podmínky produkce výběrového mléka ve VKK s volným bezstelivovým ustájením. [Výzkumná zpráva.] Brno VÚVeL 1988 : 33 s.

MATOUŠKOVÁ, O. - CIGLER, M.: Systém programů pro základní statistiku STAT. Brno VÚVeL, 1990 : 30 s.

PEŠEK, M. - ZÁVODSKÝ, K.: Závislost termorezistentní a psychrotrofní mikroflóry na celkovém počtu mikroorganismů v syrovém mléce. In: Souhrny Sděl. XIII. celost. Sem. o jakosti potravin a potravinových surovin živočišného původu. Brno 1986 : 4.

REDDY, N. S. - RAO, V. J. - VENKAYYA, D.: Studies on bacteriological quality of dried whole milk in relation to the initial quality of raw milk. J. Food Sci. Technol., 21, 1984 : 415-417.

SLANEC, E.: Zabezpečení veterinárně hygienického dozoru v prvovýrobě potravin v podmínkách vznikajícího tržního mechanismu. In: Sbor. Ref. XXI. Lenfeldovy a Höklovy dny. Brno, VŠV 16. 10. 1990 : 4-10

URBANOVÁ, E. - MALÍKOVÁ, M. - VYHNÁLKOVÁ, J.: Rychlé způsoby zjišťování úrovně mikrobiální kontaminace. [Výzkumná zpráva.] Brno, VÚVeL 1988 : 48 s.

ČSN 57 0101. Mikrobiologické zkoušení mléka a mléčných výrobků. 1964.

ČSN 57 0529. Syrové kravské mléko. 1986.

Došlo dne 1. 7. 1991

E. Urbanová, J. Vyhánková, M. Malíková (Research Institute of Veterinary Medicine, Brno, Czech Republic)

Relationship between the counts of mesophilic and psychrotrophic bacteria in samples from the milk primary production

The article is a contribution to current process of inspection of the existing state standard for purchase of fresh cow milk. In up-to-now practice the characteristics of sanitary level of milk primary production is determined especially by total counts of mesophilic aerobic and optionally anaerobic microorganisms and by a count of coliform bacteria. However cooling technique increase in the whole process of milk obtaining and processing the importance of present psychrotrophic microflora, because this microflora can cause by production of its lipolytic and proteolytic enzymes changes and damages in milk. In the article the importance of determination of psychrotrophic contaminants count (PP) with relation to total count of microorganisms (CPM) was evaluated. Three sets (1M, 2M and 3M) of the CPM and PP values in the fresh cow milk and four sets (1S, 2S, 3S and 4S) of these values, obtained during control of sanitation regimes in the milk primary production, were worked out. The results obtained of total counts of microorganisms and counts of psychrotrophic bacteria in evaluated sets of fresh

milk samples are reciprocally compared in Table I. The data on determined values, obtained for sets of samples from milk primary production, are in Table II.

In the first set (1M) 93 samples of fresh milk from storage tanks of agricultural farms were evaluated. Correlation coefficient for the results obtained is as follows: $r = 0.096 < r_p 0.005 = 0.2172$, which indicates, that statistically significant dependence between the CPM and PP values in this set was not found.

In the second set (2M) 41 samples of fresh milk from the storage tanks of agricultural farms were evaluated. Correlation coefficient obtained is as follows: $r = 0.980$, which indicates high dependence between the CPM and PP values in this set. By comparison with the r_p values from the table for the level of significance $P = 0.01$ we obtain following relation: $r = 0.980 > r_p = 0.4182$. The result proves statistical dependence at the level of significance given.

In the third set (3M) 89 samples of fresh milk from the storage tanks of agricultural farms were evaluated. Correlation coefficient for the results of tests is as follows: $r = 0.938$, which indicates high dependence between the CPM and PP values in this set. By comparison with the r_p values from the table for the level of significance $P = 0.01$ we obtain following relation: $r = 0.938 > r_p = 0.2830$. The result proves statistical dependence at the level of significance given.

In the 1S set 24 samples of scrapings before milking machine sanitary control on the agricultural farms were evaluated. Correlation coefficient for the results obtained is as follows: $r = 0.600$. By comparison with the r_p value from the table for the level of significance $P = 0.01$ we obtain following relation: $r = 0.600 > r_p = 0.5368$. The result proves statistical dependence between the CPM and PP values at the level of significance given.

In the 2S set 23 samples of scrapings after milking machine sanitary control were evaluated. Correlation coefficient obtained is as follows: $r = 0.755$, which indicates dependence between the CPM and PP values. By comparison with the r_p value from the table for the level of significance $P = 0.01$ we obtain following relation: $r = 0.755 > r_p = 0.5368$, which proves statistical dependence at the level of significance given.

On the 3S set 19 samples of scrapings before milking machine sanitary control in the herring-bone milking parlour were evaluated. Correlation coefficient for the results from tests was as follows: $r = 0.688 > r_p = 0.5751$. The results proves statistical dependence between the CPM and PP values at the level of significance given.

In the 4S set 22 samples of scrapings after milking machine sanitary control in the herring-bone milking parlour were evaluated. Correlation coefficient obtained is as follows: $r = 0.675$, which indicates dependence between the CPM and PP values in this set. By comparison with the r_p value from the table for the level of significance $P = 0.01$ we obtain following relation: $r = 0.675 > r_p = 0.5368$, which proves statistical dependence at the level of significance given.

psychrotrophic bacteria; mesophilic bacteria; fresh milk; milking machine scrapings; correlation coefficient



**VÝHODNÝ LEASING
STROJŮ A ZAŘÍZENÍ
NEJEN PRO ZAČÍNÁJÍCÍ
PODNIKATELE**

ADEKO a. s. Vám nabízí

- ☐ kapitálovou účast v jiných podnikatelských subjektech
- ☐ společné podnikání
- ☐ poradenskou, konzultační a zprostředkovatelskou činnost v oboru ekologie
- ☐ investorskou a investiční činnost
- ☐ řešení odbytových potíží výrobcům a obchodním organizacím formou leasingového financování

**ADEKO a. s.
Slezská 7
120 56 Praha 2
tel.: 258 342 fax.: 207 229**

KONTAMINACE A KOLONIZACE MLÉKÁRENSKÝCH PROVOZŮ OSMOTOLERANTNÍMI MIKROORGANISMY

Jana HAVLOVÁ, Vladimír ERBAN, Eva JIČÍNSKÁ

Výzkumný ústav mlékárenský, Jindřišská 5, 100 00 Praha 1

V práci jsme ověřovali zvýšení zachytu stafylokoků ve vzorcích syrového a pasterovaného mléka, určeného pro výrobu sýrů nebo slazeného kondenzovaného mléka, selektivním pomnožením ve vzorcích mléka. Selektivní pomnožení zvyšovalo citlivost detekce (procento pozitivních nálezů) 10 až 20krát ve srovnání s procentem zachytů metodikou podle ČSN. Ve stěrech z prostředí dvou mlékárenských závodů (sýrárny a výroby slazeného kondenzovaného mléka) po sanitaci, neselektivně i selektivně pomnožených, převládaly osmotolerantní kmeny bakterií, kvasinek a plísní. Selektivní pomnožení zvýšilo nálezy osmotolerantních kvasinek a plísní přibližně dvojnásobně. Výsledky postsanitačního průzkumu výskytu osmotolerantních organismů v obou závodech ukazují na kolonizaci technologického prostředí závodu osmotolerantními mikroorganismy. Předkládá se model cirkulace osmotolerantních mikrobů v mlékárenských závodech a diskutuje se používání pomnožovacích metod k detekci zdrojů osmotolerantní kontaminace v surovině a ve výrobě.

osmorezistence; stafylokoky; pomnožování; kolonizace

Osmorezistentní mikroorganismy patří k nejrozšířenějším a také nejobtížnějším kontaminantům v potravinářských provozech, kde se pracuje s vysokou koncentrací cukrů nebo solí. Z hlediska fyziologie osmorezistentních mikrobů, ale i z praktického hlediska je účelné rozlišovat osmofilní a osmotolerantní mikroby. Osmofilní mikroorganismy vyžadují k aktivnímu rozmnožování prostředí s vysokou osmolaritou. V přírodě se vyskytují jen v určitých specializovaných lokalitách, proto jako kontaminanty potravinářských výrobků prakticky nepřicházejí v úvahu. Osmotolerantní mikroorganismy naopak dávají přednost prostředí s nižší osmolaritou, avšak rychle se přizpůsobují prostředí s nízkou aktivitou vody; v takovém prostředí mohou nejen dlouhodobě přežívat, ale obvykle se v něm i rozmnožují. Mnohé z nich jsou kosmopolitní druhy, vyskytující se v nejrůznějších ekosystémech. Pro potravinářskou výrobu je závažné, že k nim patří i některé velmi rozšířené patogenní mikroorganismy, např. stafylokoky, z plísní četné druhy rodu *Penicillium* a *Aspergillus*, schopné produkovat mykotoxiny. Obtížnost osmotolerantních kontaminantů pro potravinářskou výrobu spočívá

především v tom, že mohou kontaminovat výrobky částečně konzervované vysokou osmolaritou (pomocí soli nebo cukrů), nebo snížením aktivity vody (dehydratací), s dlouhou garanční dobou; v některých produktech se mohou dodatečně pomnožovat, takže i nepatrná počáteční kontaminace se může během výroby a dalších manipulací s produktem pomnožit nad hygienicky přípustnou mez, případně i způsobit závažné defekty v jakosti výrobku ještě během garanční lhůty.

Vedlejší, avšak technologicky závažný důsledek osmotické adaptace osmotolerantních mikrobů, především stafylokoků, je současný vzrůst jejich rezistence k jiným stresovým faktorům, běžným v potravinářské výrobě: k tepelnému šoku (pasterační záhřevy), k vyschnutí (sušárenská výroba), k toxickým chemikáliím (dekontaminační a sanitační prostředky). Bylo např. zjištěno, že osmotická adaptace stafylokoků při solení sýrů zvyšuje přežití při dalším skladování, dokonce i schopnost k rozmnožování a produkci enterotoxinů v těchto podmínkách (I b r a h i m et al., 1981; K o e n i g , M a r t h, 1982). Osmotická preadaptace prodlužovala přežití *Staphylococcus aureus* v sušeném mléce (M c D i v i t t et al., 1964), zvyšovala odolnost k záhřevu nad 60 °C, k zmrazení a roztání a lyofilizaci výrobku, umožňovala růst a produkci enterotoxinů při supraoptimálních teplotách a rychlou resuscitaci subletálně poškozených buněk (přehledně H a l p i n - - D o h n a l e k , M a r t h, 1990). Dodatečná adaptace osmotolerantních mikroorganismů k různým technologickým stresům zřejmě souvisí s koordinovanou expresí stresových regulonů (skupin genů a operonů, které kodují adaptivní reakce na jednotlivé stresové faktory). Ačkoliv vzájemná indukce stresových regulonů nebyla u stafylokoků dosud tak podrobně studována, jako na modelových systémech *Escherichia coli* a *Bacillus subtilis*, indukce čtyř hlavních proteinů tepelného šoku mírným záhřevem zvýšila u *Staphylococcus aureus* a *S. epidermidis* současně i osmorezistenci a rezistenci k toxickým chemikáliím (Q u o r o n f l e h et al., 1990) a k lyzi β-laktamovými antibiotiky. Také u kvasinek vzrůst buněčné koncentrace osmoprotektivních látek během osmotické adaptace nebo při hladovění ve stacionární fázi růstu současně indukuje osmotoleranci a další stresové resistance (W i e m k e n, 1990; P a n a r e t o u s , P i p e r, 1990). Ukazuje se tak, že částečná konzervace mlékárenských a jiných potravinářských výrobků sníženou aktivitou vody, zaměřená na omezení růstu škodlivých kontaminujících mikrobů, u osmotolerantních organismů může naopak vést k rychlé globální adaptaci k technologickému prostředí; u stafylokoků dokonce i k preferenci prostředí s vysokou koncentrací solí (S t i l e s et al., 1959; K o e n i g , M a r t h, 1982). Tím se však také zvyšuje možnost pomnožení malých počátečních kontaminací, často prokazatelných běžnými kultivačními postupy, bez předběžného pomnožení. K průkazu této nízké osmotolerantní kontaminace by mohlo být účelné používat pomnožovací metody, které se v potravinářské mikrobiologii používají obvykle jen k průkazu některých patogenních bakterií, nebo vhodné modifikace těchto metod.

V našem průzkumu jsme se zabývali metodikou a záchytností selektivního pomnožení ve srovnání s běžnými kultivačními postupy pro detekci kontaminujících osmotolerantních mikroorganismů v surovině (mléce a pasterovaném mléce), prostředí závodu a ve finálních výrobcích ve dvou typech mlékárenských závodů, v sýrárně a výrobě slazeného kondenzovaného mléka.

MATERIÁL a METODY

Média – Tekuté pomnožovací médium Giolitti-Cantoni (GCM), Baird-Parkeřův agar (BPA), žloutkový slaný agar (ŽSA) podle ČSN 56 0089; médium s kvasničným extraktem, glukosou a antibiotiky, podle ČSN 56 0087, pro stanovení kvasinek a plísní bylo používáno v tekuté a agarizované formě (KG, KGA).

Modifikovaná média, složení a příprava – Modifikované KG a KGA pro pomnožení osmofilních a osmotolerantních kvasinek a plísní: na 1000 cm³ sterilního KG nebo 1000 cm³ sterilního rozpuštěného KGA se přidávalo 100 g laktosy a 100 g sacharosy. Po rozpuštění cukrů, promíchání a rozplnění se média přesterilizovala 20 minut v proudící páře (označení médií KGM, KGAM).

Slaný bujón s glukosou (SG): Bujón č. 2 se připravil podle pokynů výrobce. Na 1000 cm³ média se přidávalo 70 g NaCl a 50 g glukosy a sterilizace probíhala 15 minut při 121 °C.

Agar s nystatinem: Ke 100 cm³ sterilního rozpuštěného GTK nebo BPA se přidávalo po 1 cm³ sterilní vodné suspenze 0,1% nystatinu. Po promíchání se agary vylévaly do Petriho misek (označení GTKN, BPAN). Anaerobní kultivace v médiích GCM a SB se prováděla převrstvením 10 cm³ zaočkovaného média ve zkumavce 2 cm vysokou vrstvou sterilního vodného agaru.

Odběr vzorků z prostředí a ovzduší – Stěry se odebíraly ze dvou přilehlých míst zkoumaného povrchu (asi 5 cm²) sterilními vatovými tampóny, navlhčenými v příslušném testovacím médiu.

Záchyt kvasinek a plísní ze stěrů – jeden z párů tamponů se propláchl v 10 cm³ KG a 1 cm³ smyvu se naočkoval do KGA (očkování bez pomnožení). Zbýlé médium s tamponem se inkubovalo tři dny při 22 až 24 °C (neselektivní pomnožení). Druhý z páru tamponů se propláchl v KGM a médium s ponořeným tamponem se inkubovalo tři dny při 22 až 24 °C (selektivní pomnožení). Pro záchyt bakterií ze stěrů se vzorky odebíraly a očkovaly stejným způsobem. Očkování bez pomnožení a neselektivní pomnožení v bujónu č. 2, selektivní pomnožení v SB, dále inkubace dva dny při 37 °C. Z pomnožených vzorků kvasinek a plísní se vyočkovávalo na KGA a KGAM, z pomnožených vzorků pro záchyt bakterií na GTK a BPA. Kultivace, odečítání a hodnocení výsledků kultivace na agarových médiích se provádělo podle shora citovaných norem.

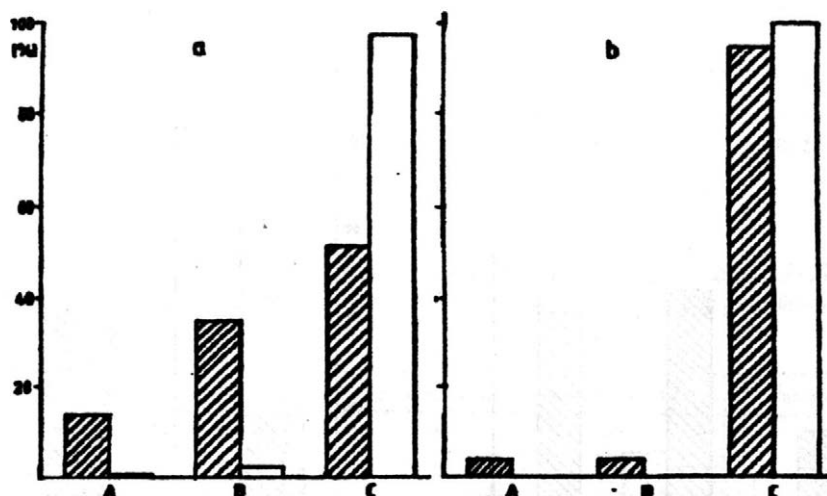
Záchyt z ovzduší: Petriho misky průměru 10 cm s médiem (KGA, GTKN, BPAN) se ponechaly na zkoumaném místě otevřené po 20 minut. Po zakrytí víčkem se misky s GTKN a BPAN inkubovaly 48 hod při 37 °C, misky s KGA pět dní při 22 až 24 °C.

Chemikálie a média – Baird-Parkerův agar (Difco); GTK (Výroba čistých kultur, Tábor); Bujón č. 2 (Immuna, Š. Michalany); teluričitan draselný (Merck, Darmstadt); nystatin (Pharmacia).

VÝSLEDKY a DISKUSE

Pozorování záchytu stafylokoků selektivním pomnožením ve vzorku s očkováním vzorku do selektivního média podle ČSN 56 0089 – Vzorky syrového nebo pasterovaného mléka byly ihned po převzetí do laboratoře zpracovány dvojím způsobem: 1. Po 10 cm³ vzorku a příslušných zředění se očkovovalo do média GCM pro zjištění počtu *S. aureus* metodou MPN podle normy. 2. Do 200 cm³ vzorku se přidávalo po 2 cm³ selektivního inhibitoru teluričitanu draselného (1% sterilní vodný roztok). Vzorky 1. a 2. se inkubovaly 48 hodin při 37 °C. Po skončení inkubace se z kultur série 1. a z pozitivních vzorků série 2. vyočkovávalo na agary GTK, BPA, AK a ŽSA a do tekutých půd GCM a SB (anaerobní kultivace). Jako „pozitivní“ byly hodnoceny vzorky série 2., kde se růst bakterií projevil zešednutím až zčernáním vzorku.

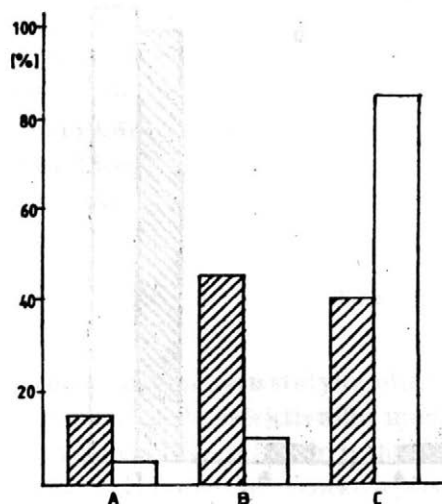
Podle výsledků kultivace byly vzorky rozděleny do čtyř kategorií: A – typické kolonie na BPA a ŽSA, dobrý růst v GCM, zkvašování glukosy za anaerobních podmínek kultivace v SB, hemolýza na KA; mikroskopicky gram-pozitivní koky ve shlucích a dvojicích. B – stejné jako A, avšak bez hemolýzy na KA. C – žádný růst na selektivních médiích. D – slabý nebo netypický růst na BPA, ŽSA nebo obou, slabý nebo žádný růst v GCM, hemolýza + nebo -, fermentace v SB + nebo -. Přepasážování izolátů ze skupiny D přes GTK v některých případech vedlo k regeneraci kmenů s vlastnostmi typickými pro kategorii A nebo B, u některých se ukázalo, že jde o jiné druhy bakterií než stafylokoky, především mikrokoky nebo sporulující bacily. Podle výsledků těchto dalších pasáží byly vzorky zařazeny do skupiny A, B nebo C. Pro orientační screening na přítomnost stafylokoků byly jednotlivé kategorie hodnoceny jako: A – pozitivní na přítomnost *S. aureus*, případně jiné druhy rodu *Staphylococcus* produkující virulenní faktory; B – pozitivní na přítomnost *S. epidermidis*, případně jiné nehemolytické druhy rodu *Staphylococcus*; C – negativní na přítomnost rodu *Staphylococcus* (K r i e g , H o l t, 1984; ČSN 56 0089). Na obr. 1 jsou uvedena procenta vzorků, zařazených jako A, B nebo C podle shora definovaných kritérií. Tyto výsledky ukazují na značně vyšší záchytnost přímého selektivního pomnožení.



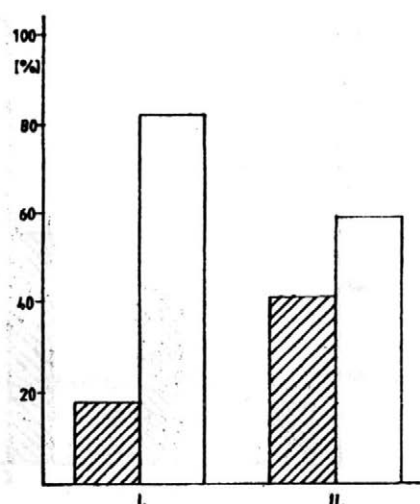
1 Porovnání záchytu (v %) bakterií rodu *Staphylococcus* ve 140 vzorcích syrového mléka (a) a 48 vzorcích pasterovaného mléka (b) očkovaných do selektivního média podle MPN a po selektivním pomnožení - Comparison of bacteria capture (in %) of the *Staphylococcus* genus in 140 samples of raw milk (a) and in 48 samples of pasteurized milk (b) inoculate to selective media according to MPN and after selective multiplication in the sample

V technice přímé selektivní kultivace ve vzorku, kterou jsme zde použili, jsme vycházeli z principu krevních kultur, používaných v medicínské mikrobiologii, kde vzorek krve, z něž má být daný mikrob vykultivován, ve kterém však je přítomen v tak nízkém počtu, že je nelze přímým vyočkováním prokázat, se použije současně jako „podezřelý vzorek“ i „kultivační médium“, a inkubuje se v laboratoři za volných podmínek, až se prokazovaný mikrob ve vzorku dostatečně pomnoží; teprve pak se přistoupí k dalšímu rozboru. Stejná situace se vyskytuje i u vzorků mléka obsahujících škodlivé nebo patogenní mikroby, které je nutné prokázat ve velmi nízkých počtech, a pro které je mléko vhodným, nutričně bohatým kultivačním médiem. Protože však mléko, na rozdíl od krevních kultur, obvykle obsahuje také jiné kontaminující mikroorganismy, které mohou růst prokazovaného mikroba potlačit, pokusili jsme se vytvořit ve vzorku selektivní podmínky přidáním selektivního inhibitoru, používaného v selektivních médiích pro stafylokoky. Jak ukazují výsledky tohoto orientačního průzkumu, je tento postup 10 až 20krát citlivější pro detekci stafylokoků v syrovém a pasterovaném mléce než běžně používaná metodika.

Orientačně byla vyzkoušena i možnost semiselektivního pomnožení ve vzorcích ze syřeniny a syra v SB; také tyto výsledky ukazují podstatně vyšší počet záchytů (obr. 2).



2. Porovnání záchytu (v %) bakterií rodu *Staphylococcus* z 20 vzorků sýřeniny a sýrů očkovaných do selektivního média podle MPN a po selektivním pomnožení ve slaném bujónu - Comparison of bacteria capture (in %) of the *Staphylococcus* genus in 20 samples of renner curd and cheeses inoculated to selective media according to MPN and after selective multiplication in a salt broth



3. Porovnání záchytu kvasinek a plísňí ze 39 vzorků stěrů po přímém naočkování a pomnožení - Comparison of capture of yeasts and moulds from 39 samples of a smear after direct inoculation and multiplication

Záchyt osmotolerantních mikroorganismů z prostředí závodu s použitím pomnožení a selektivních médií – V dalších pokusech jsme zkoušeli zvýšit záchyt osmotolerantních mikrobů z prostředí závodu neselektivním a selektivním pomnožením ze stěrů, kultivovaných v médiích KG a KGM (kvasinky a plísně), a Bujón č. 2 a SB (baktérie). Výsledky kultivace ze stěrů odebraných v prostředí závodu na výrobu kondenzovaného mléka (výrobní zařízení, stěny a podlahy, obaly) ukazují vyšší záchyt osmotolerantních mikroorganismů pomnožovací technikou (obr. 3). Kvalitativním a semikvantitativním hodnocením zachycené mikroflóry bylo možné zřetelně rozlišit dva typy vzorků. V prvním typu vzorků se obvykle vyskytoval jen jeden druh mikroorganismu; při přímém naočkování byly takové vzorky často negativní nebo rostly jen ojedinelé kolonie (10^1 KTJ/cm³). Druhý typ vzorků, který označujeme jako „ložiska“, dával už při přímém naočkování vysoké počty (10^2 až 10^3 KTJ/cm³), a obsahoval osmotolerantní bakterie, jeden až tři druhy kvasinek, v jednom případě i plísně. Našli jsme celkem čtyři taková

ložiska (8 % odebraných vzorků), vesměs na nesnadno sanitaci přístupných místech.

Přibližně po 40 izolátech bakterií, kvasinek a plísní z pomnožených i nepomnožených vzorků z prostředí obou provozů bylo testováno na osmosensitivitu, osmotoleranci a osmofilii. Ve všech případech převládaly osmotolerantní kmeny (tab. I).

I. Zastoupení [%] osmosenzitivních, osmotolerantních a osmofilních kmenů mezi izoláty ze sčěrů - Representation [%] of osmosensitive, osmotolerant and osmophilic genres among the isolates from the smears

	Počet izolátů ¹	Osmosenzitivní ²	Osmotolerantní ³	Osmofilní ⁴
Baktérie ⁵	38	7,9	92,1	0
Kvasinky ⁶	20	27,5	67,5	5,0
Plísně ⁷	42	9,5	90,5	0

¹number of isolates; ²osmosensitive; ³osmotolerant; ⁴osmophilic; ⁵bacteria; ⁶yeasts; ⁷mould

Ačkoliv se k záchytům bakterií z ovzduší nepoužívala osmoticky selektivní média, byly z ovzduší obou sledovaných závodů zachyceny jen osmotolerantní bakterie; v sýrárně mikrokoky a stafylokoky typu A a B, ve výrobě kondenzovaného mléka stafylokoky typu B.

Výsledky našeho postsanitačního průzkumu, spolu s údaji prací o globální stresové adaptaci mikroorganismů a o nekorelovanosti výskytu osmotolerantních patogenů s úrovní sanitace v potravinářských provozech (C o t t o n et al., 1990) naznačují, že výskyt osmotolerantních mikrobů v provozech a ve výrobcích není zřejmě většinou výsledkem náhodné kontaminace kombinované se špatnou sanitací, nýbrž že se jedná o kolonizaci prostředí těmito organismy. Naše výsledky vedou k následující představě o cirkulaci osmotolerantních mikrobů v mlékárenských provozech: Primární kontaminaci výrobního procesu, která se může během výroby dále pomnožit a stát se tak sama zdrojem kontaminace prostředí, je nedostatečně tepelně ošetřené mléko. Sekundární zdroj kontaminace jsou zbytky mléka ze svozu, úchovných nádrží nebo z výroby, které byly různým způsobem zavlečeny do míst méně přístupných pro sanitaci nebo nedekontaminovatelných částí a vybavení výrobních prostor („ložiska“). Tam postupně vysychají, přičemž dochází ke zvýšení osmolarity, následované celkovou stresovou adaptací, kontaminující mikroflóry, především zvýšením rezistence k vyschnutí. Takto jsou mikroby připraveny rozšiřovat se vzdušnými proudy pro vyschnutí ložiska, a sedimentací ve vzduchu vyhledávat a kolonizovat další vhodné lokality, kde se opět pomnoží a mohou pak zahájit další cyklus.

K podobnému názoru dospěli také J u n g e et al. (1989) na základě výsledků dlouhodobého sledování výskytu listerií v devíti velkých německých sýrárnách. Tito autoři zdůrazňují, že se zcela jednoznačně nejedná o náhodné kontaminace, nýbrž o soustavnou kolonizaci provozů listeremi, jejichž výskyt není nijak korelován s úrovní a intenzitou hygienicko-sanitačních opatření ve sledovaných závodech.

Jedná se zde tedy o technicky i mikrobiologicky komplikovaný problém, a současné trendy směřují k jeho alespoň částečnému řešení prevencí - k detekci a vyřazování závadných dodávek mléka a k soustavnému monitorování výskytu patogenů ve výrobě. Pro rutinní sériové rozborů k detekci a monitorování kontaminantů vyskytujících se v nízkých počtech bude zřejmě nutné používat pro screening ve větších objemech mléka metody nenáročné na technické vybavení, např. přímé selektivní pomnožení ve vzorcích, které v kombinaci se sériovými identifikačními mikrotesty by bylo pro takové formy rozborů vhodné.

Literatura

- COTON, L. N. - WHITE, C. H. - FAROOQ, K.: Mikrobiological tests and plant inspection scores as predictors of environmental pathogen presence. *J. Dairy Sci.*, 73, Suppl. 1, 1990 : 88.
- HALPIN-DOHNALEK, M. I. - MARTH, E. H.: *Styphyllococcus aureus*: Production of extracellular compounds and behavior in foods. A review. *J. Food Protect.*, 53, 1990 : 267-282.
- IBRAHIM, G. F. - BALDOCK, A. K. - RADFORD, D. R. - IRELAND, L. B.: Inhibition of *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin - A production in Cheddar cheese produced with variable starter activity. *J. Food Protect.*, 44, 1981 : 263-267.
- JUNG, W. - GÖTZ, H. - SCHULZER, G. - BUSSE, M.: Distribution of *Listeria* in cheese and environment. In: Modern microbiological products for dairy production. Proc. int. Sem. Santander (Spain), 22-24 May, 1989. Brussels, IDF, 1989 : 153-159.
- KOENIG, S. - MARTH, E.H.: Behavior of *Styphyllococcus aureus* in Cheddar cheese made with sodium chloride or a mixture of sodium chloride and potassium chloride. *J. Food Protect.*, 45, 1982 : 996-1002.
- KRIEG, N. B. - HOLT, J. G. (Eds.): *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Vol. 1. Baltimore (London), William and Wilkins 1984 : 964.
- McDIVITT, M. E. - HUPPLER, P. P. - SWANSON, A. M.: Bacteriological changes during the manufacture of nonfat dry milk. *J. Dairy Sci.*, 47, 1964 : 936-941.
- PANARETOUS, B. - PIPER, P. W.: Plasma membrane ATPase aciton affects several stress tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe* as well as the extent and duration of the heat shock response. *J. Gen. Microbiol.*, 136, 1990 : 1763-1770.
- QUORONFLEH, M. W. - STREIPS, U. N. - WILKINSON, B. J.: Basic features of the staphylococcal heat shock reponse. *Ant. van Leeuwenhoeck J. Gen. Mol. Microbiol.*, 58, 1990 : 79-86.
- STILES M. E. - WITTER, L. D. - TUCKEY, S. L.: Changes in the characteristics of *Staphylococcus aureus* during cheese ripening. *J. Dairy Sci.*, 43, 1959 : 653.

WIEMKEN, A.: Trehalose in yeast, stress protectant rather than reserve carbohydrate. *Ant. van Leenwenhoeck. J. Gen. Mol. Microbiol.*, 58, 1990 : 209-217.

ČSN 56 0083. Potravinářské výrobky. Stanovení celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů plotnovou metodou. 1986.

ČSN 56 0087. Potravinářské výrobky. Stanovení počtu kvasinek a plísní. 1986.

ČSN 56 0089. Potravinářské výrobky. Stanovení počtu *Staphylococcus aureus*. 1987.

Došlo dne 18. 9. 1991

J. Havlová, V. Erban, E. Jičínská (Dairy Research Institute, Praha, Czech Republic)

Osmotolerant microbes: contamination and colonization of dairy plants

Osmotolerant microbes, such as staphylococci and a variety of mold and yeast species, are distinguished by their ability to grow and multiply in osmotically unfavorable environments, under conditions of a low water activity. This property enables the osmotolerant contaminating microflora to reproduce in dairy products which are preserved against microbial contamination by a low water content by salting, dehydration or condensation. Moreover, these products, especially cheeses and sweetened condensed milk, are processed, distributed and stored at ambient temperatures, sometimes for long time periods. Under these conditions the contaminating osmotolerant microbes, even if initially present at very low numbers may multiply and increase to concentrations sufficient to cause spoilage or hygienic defects within the guarantee terms.

In this study, we have investigated various enrichment procedures to enhance the detection of osmotolerant micro-organisms present at very low numbers in milk and in dairy production environments.

1. Enrichment in milk - Our enrichment procedure was based on the principle of „blood cultures“, widely used in medical microbiology. This method employs a blood sample in which a given microbe is supposed to be present, simultaneously as a sample to be analysed and as a pre-enrichment selective medium for that organism. A comparable situation exists in milk with respect to pathogens and other spoilage micro-organisms present at low numbers because milk is a good nutrient medium for many of these species. However, in contrast to blood, milk often harbors a variety of microbial species capable of inhibiting the growth of the organism to be detected. Hence to suppress the interfering microflora, a selective inhibitor must be added. In our experiments we employed this enrichment procedure for the detection of pathogenic (group A, Fig. 1a) and nonpathogenic (group B, Fig. 1a) staphylococci in samples of raw milk (Fig. 1a) and pasteurized milk (Fig. 1b), using potassium tellurite as the selective inhibitor. We compared the percentage of selective pre-enriched staphylococcus-positive samples with controls obtained from the same milk sample, inoculated directly (without

pre-enrichment) into the standard selective medium. The percentage of positive results was about one order of magnitude higher for the pre-enriched samples as compared to controls (Fig. 1a and 1b). Similar results were obtained with Cheddar cheese samples pre-enriched in glucose broth supplemented with 7% (w/v) NaCl (Fig. 2).

2. Enrichment in samples taken from dairy production environments - Post-sanitation samples were taken with cotton wool swabs from the equipment and interiors of two dairy plants (cheese-making factory and condensery). Washings from the swabs in peptone-saline and cultures of the corresponding swabs (taken from the same surface areas), enriched in selective and non-selective liquid media, were inoculated onto selective agars and qualitative and quantitative analyses of the microflora were performed. Two types of samples could be clearly distinguished: 1. samples yielding negative results or very low counts without enrichment (and sometimes even after enrichment) and 2. samples giving high counts (10^2 to 10^4 fcu per ml) then inoculated directly from peptone-saline washings (without enrichment). We hypothesize that these samples (designated „micro-niches“) originate as raw milk spills, drops or small puddles containing remnants of milk and other organic impurities in which contaminating micro-organisms multiply and upon desiccation of the pool become osmotically adapted. An important feature of the osmotic adaptation of the osmotolerant micro-organisms is the concomitant increase in their resistances to other technological stresses such as heat shock, elevated temperatures, disinfectants, radiations (rev. in Halpin-Dohnalek, Marth, 1990). This phenomenon, termed „global stress adaptations“, is probably due to mutual cross-activations of individual stress regulators. Global adaptation ensures the survival of adapted microbes under adverse environmental conditions and it might play a key role in the dispersal and colonization of technical, man-made environments, such as food-processing plants, by the osmotolerant microbes. Indeed, examples of cross-adaptation to stresses were reported in staphylococci and in yeasts (Quoronfle et al., 1990; Panaretos, Piper, 1990). Osmotolerant microorganisms prevailed in both selectively and nonselectively enriched samples (Table I and Fig. 3).

In conclusion, our findings demonstrate that specific enrichment procedures could increase the sensitivity of detection of osmotolerant microbes in milk and dairy production environments and that they could also be helpful in studying the survival and colonization by these restive and troublesome contaminants in technical habitats.

osmoresistance; staphylococci; pre-enrichment; colonization

ZMĚNY OBSAHU TĚKAVÝCH LÁTEK, SOLANINU A ŠKROBU V DŮSLEDKU INFIKACE MOKROU HNILOBOU

Dana ŠUBRTOVÁ, Alena HEJTMÁNKOVÁ, Zuzana VAŇKOVÁ,
Jaromír HUBÁČEK

Vysoká škola zemědělská, 165 21 Praha 6 - Suchbát

Byly sledovány změny ve složení komplexu těkavých látek, obsahu solaninu a škrobu brambor odrůdy Karin a Resa v důsledku infekce mokrou hnilobou. K sorpci těkavých látek byl použit Tenax, k jejich eluci diethylether. Analýzy těkavých látek byly provedeny na plynovém chromatografu Hewlett Packard 5890 A (kapilární kolona s fází SE-54, FID). Obsah solaninu byl stanoven kolorimetricky. Porovnáním „finger-print“ chromatogramů těkavých látek zdravých a infikovaných hlíz v různých fázích rozvoje hniloby byly zjištěny kvalitativní i kvantitativní rozdíly. Suma těkavých látek infikovaných brambor vzrostla o 48 %, a to především o nízkovroucí složky aróma (deriváty kyseliny máselné, C₄ a C₅-karbonylové sloučeniny). Kolorimetrická stanovení solaninu T poskytlo orientační údaje o změnách steroidních glykoalkaloidů: hladina solaninu v hlízách se zvyšuje až dvojnásobně, naopak obsah škrobu klesá.

Solanum tuberosum L.; mokrá hniloba; těkavé látky; steroidní alkaloidy; obsah škrobu; změny v důsledku infekce

Brambor hlíznatý (*Solanum tuberosum* L.) patří do čeledi lilkovitých, je jednou z nejdůležitějších kulturních rostlin mírného a studeného pásu. U nás se v současnosti pěstuje na 4 % plochy orné půdy.

Chemické složení hlíz závisí na mnoha faktorech, jako je odrůda, agrotechnika, skladování, zdravotní stav aj. Největší část sušiny hlíz tvoří polysacharid škrob, který je uložen ve formě škrobových zrn v parenchymatických buňkách.

Velmi důležitý je obsah alkaloidů v hlízách. Pro *Solanum tuberosum* je příznačná skupina steroidních glykoalkaloidů zvaná solanin-T, která je tvořena směsí glykoalkaloidů α -, β - a γ -solaninu a α -, β - a γ -chaconinu.

V poslední době byla věnována značná pozornost obsahu těkavých látek v bramborách, především těm, které se uvolňují při vaření, pečení a smažení brambor, neboť bezprostředně působí na čichové a chuťové akceptory konzumenta. V této souvislosti by měla být větší pozornost věnována i napadení některými škůdci a chorobami během vegetace a zvláště pak během skladování, kdy může dojít ke značnému ovlivnění kvality a intenzity bramborového aróma.

Ve své práci jsme se zabývali změnami v sumě těkavých látek, obsahu škrobu a solaninu v hlízách brambor v důsledku jejich napadení mokrou bakteriální hnilobou, která je způsobena saprofytními baktériemi *Erwinia carotovora*.

Alkaloidy a těkavé látky byly zvoleny jako vhodné obsahové látky brambor v souvislosti se studiem vlivu stresových faktorů na produkci sekundárních metabolitů rostlinou. Údaje o změnách v obsahu škrobu jsou pouze doplňující.

Aróma brambor je tvořeno sumou sloučenin různé chemické povahy relativně vysoké tenzi par. Poměrné zastoupení jednotlivých sloučenin a jejich charakter jsou závislé na podmínkách a způsobu zpracování bramborových hlíz. První práce studující aróma bramborových hlíz se objevuje na počátku 70. let. S rozvojem separačních a identifikačních metod - speciálně plynové chromatografie - roste počet prací a zároveň se rozšiřuje oblast zájmů, vedoucích ke sledování složení komplexu těkavých látek i změn v tomto komplexu v důsledku působení nejrůznějších faktorů.

Testováním vlivu různých dávek dusíku, draslíku, fosforu a hořčíku na složení komplexu těkavých látek se zabýval K h a n et al. (1977). Pro sledování produkce těkavých látek během skladování za účelem indikace hnití hlíz vypracovali L u k a s h e n k o et al. (1987) postup pro zkoncentrování a následnou desorpci těkavých látek. Podmínky GC analýzy těkavých látek indikujících skvrnitou hnilobou popsali N e m i r o v s k a j a et al. (1987) včetně headspace metody pro odběr vzorků skladové atmosféry. Posouzení vhodnosti dvou různých forem aktivního uhlí jako sorbentu těkavých látek brambor během skladování provedli K a l i n k e v i c h et al. (1988). Monitorování těkavých látek jako způsob jako způsob při diferenciaci mezi chorobami *E. carotovora* a *C. sepdonicum* u skladovaných brambor použili W a t e r e d a P r i t c h a r d (1984). Celková koncentrace těkavých látek se zvyšovala exponenciálně s rozvojem hniloby. Titíž autoři sledovali produkci těkavých látek, zvláště pak těkavých metabolitů tvořících se během poranění a hnojení poraněných míst, u dvou odrůd brambor. 3-hydroxy-2-butanon byl detekován pouze v porušených hlízách (W a t e r e d , P r i t c h a r d , 1985).

Z vybraných literárních pramenů vyplývá zájem vědců o těkavé látky brambor z nejrůznějších aspektů. Především monitorování těkavých látek jako možného indikátoru při výskytu chorob v počáteční fázi se jeví velmi prospěšné pro praxi.

K izolaci alkaloidů z hlíz se používá především extrakce methanolem (K a i w a r a et al., 1984) a směsí methanol-chloroform v různých poměrech (B u s h w a y et al., 1986; H e l l e n a e s , 1986; C a r m a n , 1986). Vedle metod kolorimetrických (T u k a l o , K u l i k o v , 1983), chromatografie papírové a tenkovrstevné (J e l l e m a et al., 1982) a plynové (v a n G e l d e r , 1989) se k identifikaci a separaci stále ve větší míře využívá chromatografie kapalinové. K vlastním chromatografickým analýzám jsou voleny kolony s reverzní

fází C_{18} , většinou se pracuje v izokratickém režimu s mobilní fází acetonitril:voda v různém poměru (B u s h w a y et al., 1986), popřípadě s přidavkem ethanolaminu jako modifikátoru (H e l l e n a e s, 1986; O s m a n, S i n d e n, 1989) a detekce UV detektorem při 208 nm. Dobře se dále uplatňují Nucleosil NH_2 kolony s elucí směsnou mobilní fází: tetrahydrofuran-fosfátový pufr-acetonitril (K o z u k u e, M i z u n o, 1986), nebo kolona, u Bonapak NH_2 s využitím mobilní fáze ethanol-acetonitril-fosfátový pufr (K o b a y a s h i et al., 1989). Sledování změn v obsahu alkaloidů během skladování v důsledku působení stresu a studiem jejich biosyntézy, se zabývala řada autorů. Studium toxicity jednotlivých alkaloidů z hlediska farmakologického se zabýval G o n m o r i (1988). Klasifikaci jednotlivých odrůd především stolních brambor včetně změn v důsledku expozice na slunci provedli N e g u t et al. (1986) a N i s t o r, P a r a d o p o l (1986).

Zajímavý je experiment, který dělali Z i n t a k a a F i l a d e l f i (1985), když provedli organoleptické hodnocení tří majoritních glykoalkaloidů α -solaninu, α -chaconinu a β -chaconinu. Podařilo se jim stanovit práh postřehu hořké - kofein připomínající - chuti. Změny v obsahu α -solaninu během skladování brambor sledovali A h n et al. (1983).

Rychlost a intenzitu akumulace stresových metabolitů - seskviterpenů a glykoalkaloidů - ve vztahu k abscisové a arachidonové kyselině v závislosti na stáří a skladovacích podmínkách brambor studovali B o s t o c k et al. (1983). K a l a č a W i t t i n g e r o v á (1986) studovali možnost fotostimulace formování glykoalkaloidů ve skladovaných hlízách. Distribuci a koncentraci α -solaninu v hlízách s cílem volby optimálních skladovacích podmínek studoval C h e n G u a n (1984). U p p a l (1987) porovnával sumy glykoalkaloidů v jednotlivých odrůdách brambor. Nutriční hodnotu čerstvých brambor v souvislosti s celkovou sumou alkaloidů a dále brambor po úpravě dehydratací za nízkých teplot porovnávali B u s h w a y et al. (1985). Studium tvorby a akumulace alkaloidů obsažených v bramborách z biochemického a genetického aspektu se zabývali R o d d i c k a R i j n e n b e r g (1986). Zkoumali vliv steroidních alkaloidů na permeabilitu liposomních membrán. Syntetické interakce mezi glykoalkaloidy α -solaninem a α -chaconinem a jejich vztah k destabilizaci buněčných membrán popsali R o d d i c k a R i j n e n b e r g (1988). O l s o n (1986) studoval vztah mezi genotypem a akumulací glykoalkaloidů v hlízách brambor. M o r i s a P e t e r m a n n (1985) sledovali vztah mezi odrůdou a obsahem glykoalkaloidů v hlízách. Biogenezi steroidních sloučenin Solanaceae studoval H e f t m a n n (1983). Vliv mikroelementů (Mn, B, Li) na biosyntézu alkaloidů v bramborách zkoumal B u z u k (1986).

T h o r n e et al. (1985) zkoumali inhibiční účinek steroidních glykoalkaloidů na infekci tkáňových kultur způsobenou virem typu T herpes simplex. R o d d i c k (1989) prokázal inhibiční účinek α -solaninu a α -chaconinu na

lidskou acetylcholinesterázu v koncentraci 100 µg nezávislých na pH. Steroidní glykoalkaloidy obsažené v bramborách z hlediska jejich metabolické regulace a akumulace v důsledku působení stresových faktorů (poranění, hniloba, infekce) studoval K u c (1984). V této své práci shrnul dosavadní poznatky o steroidních glykoalkaloidech v roli fytoalexinů.

MATERIÁL A METODY

Materiál - Odrůda **Resa** (pochází z Nizozemí, povolena v ČSFR od roku 1972) stolní raná, vhodná pro letní, případně podzimní konzum. Dává vysoký výnos a je hodná pro mechanizovanou sklizeň. Její odolnost proti virům, mykózám, bakteriím a obecné strupovitosti je vyšší.

Odrůda **Karin** byla vyšlechtěna v Šlechtitelské stanici Keřkov křížením odrůd Rita a Hera, povolena je od roku 1980. Středně raná a raná stolní odrůda. Dává vyšší výnosy, škrobnatost hlíz je střední, stolní hodnota je velmi dobrá. Je odolná proti rakovině, středně odolná proti virozám, odolnost proti plísní bramborové je střední až vyšší.

Veškeré použité chemikálie byly použity v čistotě p. a.

Pro stanovení obsahu škrobu byl použit Polarimetr klínový typ 411 (výrobce Metra Praha), pro spektrometrické stanovení solaninu Spekol 11 (výrobce Carl Zeiss Jena, NDR), pro separaci těkavých látek byl použit plynový chromatograf Hewlett Packard 598 A, kapilární křemenná kolona 7,6 m, smočená fází SE - 54, FID.

Metody - Stanovení škrobu bylo provedeno metodou podle Ewerse.

Stanovení solaninu: Vzorky brambor byly dodány katedrou rostlinné výroby VŠZ, rozvoj nákazy byl konzultován s odborníky katedry ochrany rostlin VŠZ Praha. První odběr vzorků byl proveden po objevení prvních příznaků choroby. Dále byly vzorky odebírány v týdenních intervalech až do stadia, kdy hniloba zasáhla víc než polovinu hlízy.

Pro stanovení alkaloidů se odebíralo asi 500 g vzorku. Po homogenizaci v mixéru byl vzorek sušen v sušárně při 105 °C do konstantní hmotnosti.

Pro stanovení solaninu jsme navažovali 20 až 30 g sušených brambor, navážku jsme přelili desetinásobným množstvím 80% ethanolu a 30 minut vařili pod zpětným chladičem. Ještě za tepla jsme extrakt za použití mírného podtlaku zfiltrovali a zbytek na filtru extrahovali ještě dvakrát stejným množstvím rozpouštědla (vždy 15 minut). Spojené ethanolové filtráty jsme zahušovali při 50 °C ve vakuové odparce na objem asi 30 ml. Zahuštěný extrakt jsme převedli stejným množstvím 100 kyseliny octové do 250ml dělicí nálevky. Barevné a lipoidní látky jsme z extraktu odstranili extrakcí diethyletherem (po malých asi 10ml dávkách až do odstranění pigmentů). Spojené diethyletherové extrakty jsme

převodli do 400ml dělicí nálevky a třikrát extrahovali vždy do 20 ml 5% kyseliny octové. Vodné fáze získané z těchto extrakcí jsme spojili s vodní fází po diethyletherové extrakci. Zbylý diethylether jsme odstranili mírným odpařením ve vakuové rotační odparce. K roztoku jsme přidali amoniak (až do výsledného pH 10). K dokonalému vysrážení alkaloidů jsme směs po srážení zahřívali 30 minut na 70 °C a skladovali přes noc v chladničce. Poté jsme sraženinu zfiltrovali skleněnou fritou G3 s vrstvou Celitu (Hyfflo Super-Cel), předem promytou vodou a třikrát promyli 10 ml 1% amoniaku. Celkový objem promývací kapaliny jsme změřili. Zbytek na celitové vrstvě jsme rozpustili, promyli a doplnili do 25ml odměrné baňky 5% kyselinou fosforečnou.

K spektrofotometrickému stanovení jsme pipetovali 1 ml roztoku alkaloidů v 5% kyselině fosforečné, přidali 10 ml paraformaldehydového činidla obsahujícího 30 mg paraformaldehydu v 85% kyselině fosforečné a po 30 minutách jsme změřili barevnou intenzitu při vlnové délce 600 nm proti slepému pokusu. Množství solaninu bylo odečteno z kalibrační křivky, přičemž k této hodnotě bylo přičteno odpovídající množství solaninu, které se ztrácí při promývání sraženiny solaninu 1% amoniakem (rozpuštěnost solaninu je 0,37 mg na 100 ml).

Plynová chromatografie těkavých látek: 200 g omytých bramborových hlíz (zdravých a napadených hnilobou) bylo vloženo do skleněné baňky opatřené dvěma vývody, umístěnými ve dně a zátce baňky. Dnem byl přiváděn vzduch o konstantním průtoku a v zátce byla umístěna kolona délky 5 cm naplněná Tenaxem. Těkavé složky, strhávané proudem vzduchu a sorbované na Tenaxu byly po jedné hodině vymyty z kolony 3 x 5 ml diethyletheru p. a.

Obsah těkavých látek a změny v zastoupení jednotlivých složek byly sledovány od počátku rozvoje infekce (nepatrné skvrny postřehnutelné jen na dobře omytých hlízách). Typický pach nebyl prokazatelný.

Pro nástřik na plynový chromatograf byl objem vzorku upraven na 1 ml a přidáno 10 µl vnitřního standardu dekanu v diethyletheru (1 mg/cm³).

K GC analýze byly nástřikovány na kolonu 2 µl vzorku. Analýzy byly provedeny ve trojím opakování v teplotním režimu přístroje - nástřik 330 °C, počáteční teplota 25 °C, prodleva 3 minuty, teplotní nárůst 25 °C za min. do 325 °C - následná prodleva 4 minuty. Celková doba analýzy byla 20 minut.

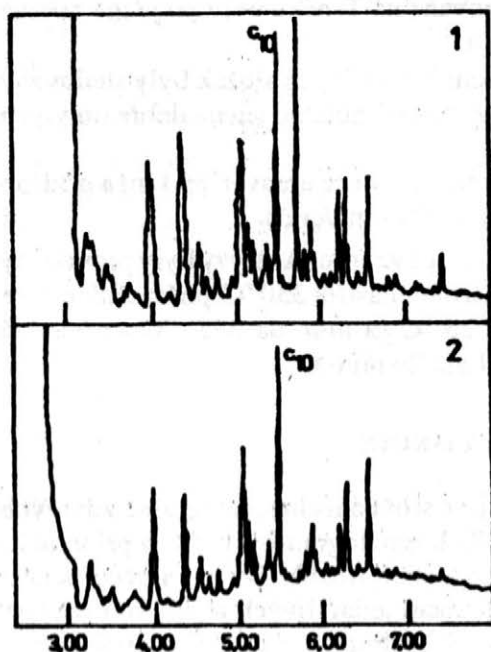
VÝSLEDKY a DISKUSE

Výsledky analýz těkavých látek vyplývají ze srovnání chromatogramů zdravých a hnilobou napadených hlíz odrůdy Resa. Z chromatogramů zdravých při využití finger-print techniky (obr. 1) jsou patrné výrazné rozdíly jak ve složení směsi těkavých látek, tak i v kvantitativních zastoupení jednotlivých jejích komponent. Chromatogramy jsou pořízeny za identických podmínek přípravy vzorků včetně

velikosti nástřiku. Pro kvantitativní porovnání byla použita metoda vnitřního standardu (dekan). Všechny analýzy byly provedeny v trojím opakování. Rozdíly mezi výsledky jednotlivých stanovení se pohybovaly v hodnotách přípustných pro GC analýzu. Chromatogramy těkavých látek brambor představují značně komplikovanou směs látek v různém vzájemném procentuálním zastoupení.

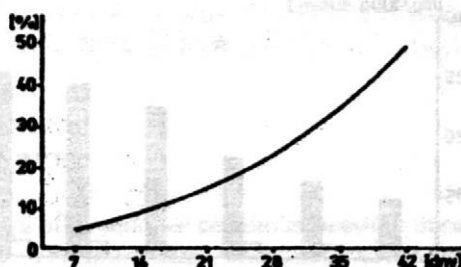
U brambor zasažených mokrou hnilobou je v přední části chromatografického záznamu patrné značné zhuštění píků (obr. 1), což odpovídá tvorbě sekundárních těkavých látek s kratším uhlíkovým řetězcem v důsledku napadení chorobou. Toto zjištění odpovídá senzoricky snadno zjistitelné skutečnosti - intenzivnímu pachu příbuznému například butanal, butanolu a derivátům kyseliny máselné, především esterům. Metodou standardního přidavku byly ve spektru těkavých látek napadených hlíz charakterizovány methyl- a propylbutyrát. Z porovnání ploch píků vnitřního standardu a jednotlivých složek směsi těkavých látek (poměr velikosti ploch píků představuje relativní poměr koncentrací jednotlivých složek) vyplývá zvýšení celkové sumy těkavých látek infikovaných brambor během sledovaného období o 48 %.

Ghromatogram	Data File	Start Line [min]	Stop Line [min]	Scale Range [mV]	Scale Offset [mV]
1	ANTON_11	2.00	8.00	36	-131
2	ANTON_12	2.00	8.00	57	-133



1. Výřez z finger-print chromatogramu těkavých látek brambor odrůdy Resa - A section of the finger-print chromatogram of volatile matters in the potato variety Resa

2. Závislost sumy těkavých látek brambor na rozvoji mokré hniloby proti kontrole - Dependence of the sum of volatile matters in potatoes on the development of wet rot, in comparison with the control



S rozvojem choroby se značně mění chromatografické spektrum těkavých látek. Nárůst celkové sumy těkavých látek oproti kontrole (suma těkavých látek produkováných zdravými hlízkami) v důsledku infekce mokrou hnilobou je patrný z obr. 1 a 2. Ze získaných hodnot vyplývá možnost využití této metody k indikaci nákazy v samém počátku jejího rozvoje, kdy sensoricky ani vizuálně není dostatečně průkazná.

Výsledky analýzy obsahu solaninu u brambor zdravých a napadených mokrou hnilobou odrůd Karin a Resa vyplývají z obr. 3 a tab. I.

Pro obě odrůdy byla provedena tři paralelní stanovení, každé ve dvou opakováních. Uvedené výsledky jsou jejich aritmetickým průměrem.

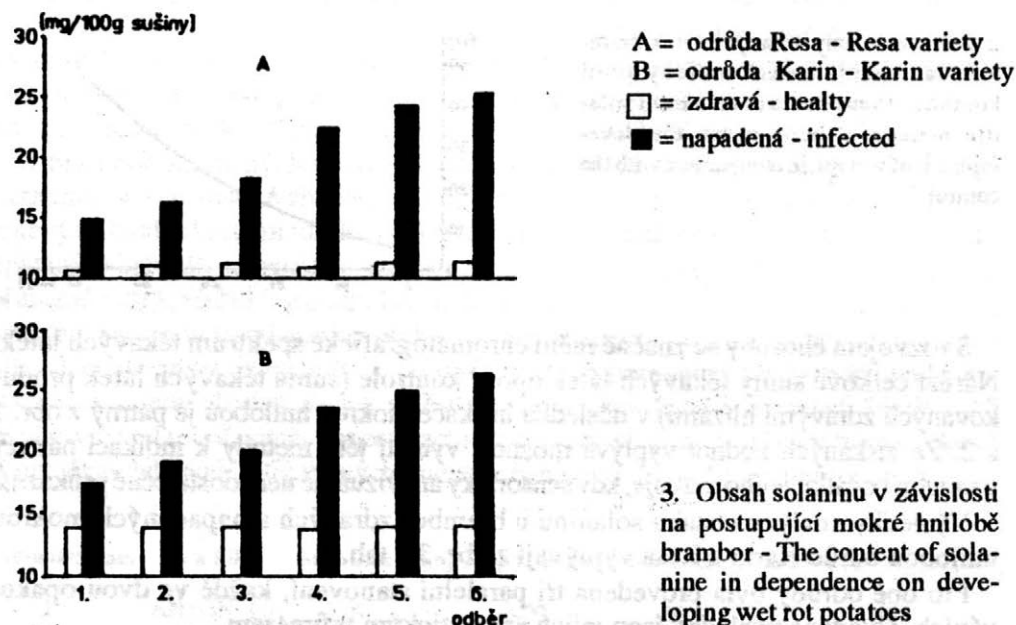
I. Obsah solaninu v hlízkách odrůd Karin a Resa v závislosti na rozvoji choroby (v mg ve 100 g sušiny) - Solanine content in tubers of the Karin and Resa varieties in dependence on disease development (mg in 100 dry matter)

Odrůda ¹	Odběr ²					
	1.	2.	3.	4.	5.	6.
Karina zdravá ³	13,8	13,8	13,9	13,7	13,9	13,9
napadená ⁴	17,4	19,2	20,1	23,6	25,0	16,4
Resa zdravá	10,6	11,0	11,1	10,8	11,1	11,2
napadená	13,8	16,2	18,0	22,3	24,1	25,1

¹variety; ²sampling; ³healthy; ⁴infected

Doplňujícími analýzami obsahu škrobu v hlízkách byla prezentována metabolická souvislost mezi úbytkem škrobu v hlízkách a rozvojem plísně (zdroj energie) popř. nárůstem obsahu steroidních alkaloidů. Termíny odběrů jsou shodné s termíny odběrů vzorků pro stanovení alkaloidů.

Fungicidní účinky steroidních alkaloidů v Solanaceae jsou známy a studovány od 60. let. Zvýšená tvorba glykoalkaloidů v hlízkách je iniciována výskytem různých patogenních i nepatogenních organismů. V přítomnosti patogenů kromě zvýšené produkce steroidních alkaloidů dochází k značnému nárůstu obsahu



3. Obsah solaninu v závislosti na postupující mokré hnilobě brambor - The content of solanine in dependence on developing wet rot potatoes

jednodušších nonseskvi- a seskviterpenoidních sloučenin - fytoalexinů jako rishitinu, libiminu, phytuberinu a dalších.

Příspěvek steroidních alkaloidů k rezistenci proti chorobám není přesně vymezen. Přesto je prokázáno, že se steroidní alkaloidy jako sekundární metabolity spolu s terpenoidy tvoří acetylmevalonátovou cestou. Naše výsledky, které lze považovat za orientační vzhledem k použité metodě, potvrzují funkci solaninu jako fytoalexinu.

II, Obsah škrobu (%) v čerstvé hmotě bramborových hlíz odrůd Karin a Resa - Starch content (%) in the fresh mater of potato tubers of the Karin and Resa varieties

Odrůda ¹	Zdravé hlízy ²		Napadené hlízy ³	
	3. odběr ⁴	6. odběr	3. odběr	6. odběr
Karin	16,8	15,9	11,2	9,3
Resa	12,9	12,75	8,42	7,1

¹variety; ²healthy tubers; ³infected tubers; ⁴sampling

Experimentálně byly zvládnuty izolace (extrakční metody) a separace (GC) těkavých látek čerstvých zdravých brambor a brambor infikovaných mokrou hnilobou. Dále bylo provedeno orientační stanovení solaninu (kolorimetrická metoda) a škrobu u zdravých a napadených bramborových hlíz.

Byly prokázány kvalitativní a kvantitativní změny ve spektru těkavých látek, a tomu odpovídající změny v obsahu solaninu a škrobu u napadených hlíz brambor ve srovnání s hlízami zdravými. U těkavých látek nebyla provedena detailní kvalitativní a kvantitativní identifikace.

Literatura

- AHN, S. J. - CHOE, E. O. - PARK, J. J.: Changes of α -solanine content of potatoes during storage. Han-guk Nonghwa Hakhoechi, 26, 1983 : 177-182. Chem. Abstr., 100 : 155416x.
- BOSTOCK, R. M.: Effects of potato tuber age and storage on sesquiterpenoid stress metabolite accumulation, steroid glycoalkaloid accumulation to abscisic and arachidonic acids. Phytopathology, 73, 1983 : 435-438.
- BUSHWAY, R. J. - BUREAU, J. L. - KING, J.: Modification of the rapid HPLC method for the determination of potato glycoalkaloid. J. Agric. Food Chem., 34, 1986 : 277-279.
- BUSHWAY, A. A. - BUREAU, J. L. - BERGERON, D. - STICKNEY, M. R. - BUSHWAY, R. J.: The nutrient and glycoalkaloid content of a new potato meal. Amer. Potato J., 62, 1985 : 301-306.
- BUZUK, G. N.: The influence of microelements on the biosynthesis of alkaloids. Raskit Resur., 22, 1986 : 279-289. Chem. Abstr., 105 : 39306n.
- CARMAN, A. S.: Rapid HPLC determination of the potato glycoalkaloids α -solanine and α -chaconine. J. Agric. Food Chem., 34, 1986 : 279-282.
- CHEN GUAN: Distribution and content of α -solanine in stored potato. Shipin Kexue (Beijing), 57, 1984 : 8-15. Chem. Abstr., 103 : 21429g.
- GELDER, W. M. J. van - JONKER, H. H. - HUIZING, H. J. - SHEFFER, J. J. C.: Capillary gas chromatography of steroidal alkaloids from solanaceae. Retention indices and simultaneous flame ionization (nitrogen-specific detection). J. Chromatogr., 442 : 133-145.
- GONMORI, K.: Solanine poisoning. Japan. J. Toxicol., 2, 1988 : 241-244. Chem. Abstr., 111 : 172537g.
- HEFTMANN, E.: Biogenesis of steroid in solanaceae. Phytochemistry, 22, 1983 : 1843-1860.
- HELLENAES, K. E.: A simplified procedure for quantification of potato glycoalkaloids in tuber extracts by HPLC, comparison with Elisa and a colorimetric method. J. Sci. Food Agric., 37, 1986 : 776-782.
- JELLEMA, R. - ELEMA, E. T. - MALINGRE, T. M.: A rapid quantitative determination of the individual glycoalkaloids in tubers and leaves of *Solanum tuberosum* L. Potato Res., 25, 1982 : 247-255.
- KAJIWARA, N. - NINOMIYA, T. - KAWAI, H. - HOSOGAI, Y.: Determination of solanine in potatoes by HPLC. Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 25, 1984 : 256-260. Chem. Abstr. 102 : 22947r.
- KALÁČ, P. - WITTINGEROVÁ, M.: Glykoalkaloidy v bramborách. Agrochémia (Bratislava), 26, 1986 : 121-123.
- KALINKEVICH, G. A. - LUKASHENKO, I. M. - SOLOVEV, S. I. - KOVALEVA, V. V.: Using carbon absorbents for concentrating volatile substances secreted by stored potatoes. Izv. Timiryazevs. S - Kh. Akad., 1988 : 162-165.

- KHAN, I. - MUELLER, K. - WARMBIER, H.: Effect of variety and fertilizer on the volatile aromatic spectrum of potatoes. *Potato Res.*, 20, 1977 : 235-242.
- KOBAYASHI, K. - POWELL, A. D. - TOYODA, M. - SAITO, Y.: HPLC method for the simultaneous analysis of α -solanine and α -chaconine in potato plants cultured *in vitro*. *J. Chromatogr.*, 462, 1989 : 357-364.
- KOZUKUE, N. - MIZUNO, S.: Glycoalkaloids of potatoes. I. Determination of α -chaconine and α -solanine in May queen potatoes by HPLC. *Nippom Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 33, 1986 : 232-237.
- KUC, J.: Steroid glycoalkaloids and related compounds as potato quality factor. *Amer. Potato J.*, 61, 1984 : 123-139.
- LUKASHENKO, I. M. - KALINKEVICH, L.: Method of concentration and desorption of characteristic components evolved during storage of potatoes. *Izv. Timiryazevsk. S-Kh. Akad.*, 1987 : 174-178.
- MORRIS, S. C. - PETERMANN, J. B.: Genetic and environmental effects on levels of glycoalkaloids in cultivars of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Food Chem.*, 18, 1985 : 271-282.
- NEGUT, G. - PAVKOV, L. - GOIE, A. - ALEXANDRESCU, E.: Alkaloids contents (Solanine, Solanidine) in potatoes. *Rev. Jg. Bacteriol., Virusol., Parazitol., Epidemiol., Pneumofiziol.* 35, 1986 : 89-92. *Chem. Abstr.*, 107 : 196669v.
- NEMIROVSKAJA, J. B. - SIDOROV, A. A. - KALINKEVICH, G. A.: Gas chromatographic analysis of solutions of oxygen-containing compounds released during potato storage. *Izv. Timiryazevsk. S-Kh. Akad.*, 1987 : 199-202.
- NISTOR, C. - PARADOPUL, V.: Solanine and solanidine from potatoes. *Rev. Jg. Bacteriol., Virusol., Parazitol., Epidemiol., Pneumofiziol. Jg.*, 35, 1986 : 161-166. *Chem. Abstr.* 107 : 196572h.
- OLSON, K.: The influence of genotype on the effects of impact damage on the accumulation of glycoalkaloids in potato tubers. *Potato Res.*, 29, 1986 : 1-12.
- OSMAN, S. F. - SINDEN, S. L.: HPLC analysis of solanum steroidal alkaloids. *J. Chromatogr.*, 479, 1989 : 189-193.
- RODDICK, J. G. - RIJNENBERG, A. L.: Effect of steroidal glycoalkaloids of potato on the permeability of liposome membranes. *Physiol. Plant.*, 68, 1986 : 436-440.
- RODDICK, J. G. - RIJNENBERG, A. L.: Synergistic interaction between potato glycoalkaloids α -solanine and α -chaconine in relation to destabilization of cell membranes: ecological implication. *J. Chem. Ecol.*, 14, 1988 : 889-902.
- RODDICK, J. G.: The acetylcholinesterase - inhibitory activity of steroidal glycoalkaloids on their aglycons. *Phytochemistry*, 28, 1989 : 2631-2634.
- THORNE, H. V. - CLARKE, G. F. - SKUCE, R.: The inactivation of herpes simplex virus by some solanaceae glycoalkaloids. *Antiviral Res.*, 5, 1985 : 335-345. *Chem. Abstr.*, 104 : 657361.
- TUKALO, E. A. - KULTIKOV, V. A.: Determination of solanine content of potato tubers. *Vopr. Pitan.*, 1983 : 69-70.
- UPPAL, D. S.: Varietal and environmental effect on the glycoalkaloid content of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Pl. Food Hum. Nutr.*, 37, 1987 : 333-340.
- WATERED, D. R. - PRITCHARD, M. K.: Volatile monitoring as a technique for differentiating between *E. carotovora* and *C. sepedonicum* infection in stored potatoes. *Amer. Potato J.*, 61, 1984 : 345-353.

WATERED, D. R. - PRITCHARD, M. K.: Volatile production by wounded „Russet burbank“ and „Norlands“ potatoes. Sci. Aliment, 5, 1985 : 205-216.

ZITNAK, A. - FILADELFI, M. A.: Estimation of taste thresholds of three potato glycoalkaloids. Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 18, 1985 : 337-339.

Došlo dne 1. 3. 1991

D. Šubrtová, A. Hejtmánková, Z. Vaňková, J. Hubáček
(University of Agriculture, Praha, Czech Republic)

Changes in the contents of volatile substances solanine and starch caused by soft rot infection

The changes in the content of volatile compounds and solanine in potato tubers (*Solanum tuberosum*) infected with soft rot (*Erwinia carotovora*) during storage were investigated as part of the research programme „The influence of stress factors on the production of secondary metabolites by a plant“. Two varieties of potatoes were tested: 1. Resa (origin: the Netherlands), 2. Karin (origin: Czechoslovakia).

The content of solanine T (mixture of α -, β - and γ -solanine and α -, β - and γ -chaconine) was measured by the colorimetric method after extraction of the dried potato tubers with 80% ethanol, conversion to quaternary salts, purification with diethylether. At the end a defined portion of paraformaldehyde was added to a constant volume of solution (salts are washed out from Celite with diluted H_3PO_4) and measured at $\lambda = 600$ nm.

A short column packed with Tenax (50x8 nm) was installed in the end of the glass tube filled up with potato tubers and stripping of volatiles was carried out with the constant stream of air during 24 hours.

Diethylether extracts of the volatiles were collected and after concentration to 0.1 ml analysed by gas chromatography (Helwett Packard instrument, model 589 A), using glass capillary column coated with SE-54 stationary phase, linear temperature programme 25-225 °C, 10 °C per minute, FID.

For comparing the results, „fingerprint“ chromatograms are used. Significant differences between healthy and infected potato tubers in the total content of the volatile compounds and in the composition of chromatographic spectra were found as *Erwinia carotovora* infection was developing (see Figs. 1 and 2). Methyl- and propyl butyrate and C_4 -carbonyles were characterized only of volatile compounds isolated from infected tubers increased to 48 % in comparison to healthy tubers during tested period. The results of solanine analyses in both healthy and infected potato tubers are presented in Table I and Fig. 3. The increase of solanine content in infected potatoes is very important from the point of view of toxicity of steroidal glycoalkaloids. Similar results were obtained for both varieties of potatoes.

Solanum tuberosum L.; soft rot infection; volatile substances; steroidal glycoalkaloids; starch content; changes caused by infection

RECENZE

BIOCHEMIA, ŻYWNOŚCI, ĆWICZENIA I METODY

BIOCHEMIE POTRAVIN, CVIČENÍ A METODY

Jerzy Dziuba, Henryk Kostyra

Vydavatelství WYSAWNICTWO ART, Olsztyn, 1992

Polští autoři Dziuba a Kostyra připravili publikaci biochemie potravin soustředěnou na metodické otázky tohoto oboru. Kniha o celkovém rozsahu 329 stran je rozdělena do pěti základních kapitol. Náplní jsou kapitoly sestaveny tak, že nepředpokládají větší předběžné teoretické znalosti popisované látky.

První kapitola je věnována především separačním metodám, kromě nich jsou ve stručnosti popsány i metody spektrální analýzy a automatické analytické metody v analýze složek potravin. V této kapitole jsou ve stručnosti charakterizovány teoretické základy separačních metod (dialýza, gelová chromatografie, chromatografie na iontoměničích, plynová chromatografie, výsoκούčinná kapalinová chromatografie a elektroforéza na nosičích). Ze spektrálních metod jsou popsány metody z viditelné a ultrafialové oblasti spektra, dále pak metody infračervené spektrometrie, atomové absorpční spektrometrie a hmotností spektrometrie. Z automatických analytických metod jsou v krátkosti charakterizovány automatické metody stanovení dusíkatých sloučenin a automatické metody a zařízení na stanovení tuku, bílkovin a laktosy v mléce a mléčných výrobcích.

Druhá kapitola je věnována analytickým metodám stanovení složek biologického materiálu. U každé metody je popsán princip, použité roztoky a chemikálie i aparatura, dále přesný pracovní postup, vyhodnocení výsledků a nakonec jsou uvedeny i základní literární prameny. V této kapitole jsou popsány metody stanovení bílkovin a aminokyselin, sacharidů a tuků, nukleových kyselin a vitamínů. Analytické metody stanovení nukleových kyselin a vitamínů jsou popsány jen na několika málo příkladech.

Třetí a čtvrtá kapitola jsou věnovány problematice charakterizované názvem knihy, tedy biochemickým problémům, neboť první dvě kapitoly knihy by bylo vhodnější zařadit k analýze potravin. Ve třetí kapitole jsou popisovány některé postupy izolace a charakterizace enzymových systémů (především stanovení aktivit některých enzymů). Ve čtvrté kapitole jsou uvedeny dvě ukázky sledování metabolismu. Poslední pátá kapitola je věnována výpočtům a kontrolním otázkám.

Kniha je určena především studentům potravinářské chemie a technologie a příbuzných oborů zabývajících se kvalitou potravin. Může posloužit i pracovníkům majícím vztah k jakosti potravin, i když nejsou absolventy příslušných studijních oborů.

Prof. ing. Jiří D a v í d e k, DrSc.

ZMENY V ZASTÚPENÍ MASTNÝCH KYSELÍN LIPIDOV VZORIEK, KONZERVovaných KOMBINÁCIU TERMOSTERILIZÁCIE A IONIZUJÚCEHO ŽIARENIA

Mária TAKÁCSOVÁ, Ladislav ŠORMAN†, Slavomíra DUDÁŠOVÁ,
Alica RAJNIAKOVÁ, Bernadette HOZOVÁ

Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

Metódou plynovej chromatografie sme sledovali zmeny v zastúpení mastných kyselín lipidov modelových vzoriek „Bravčové mäso vo vlastnej šťave“, konzervovaných kombináciou termosterilizácie a ionizujúceho žiarenia v priebehu skladovania. Pri príprave pokusu a analýze vzoriek sme využili metódu plánovaného experimentu. Dosiahnuté výsledky sme spracovali počítačom EC 10 10 programom ROUCEKOP, pričom sme zistili, že vplyvom kombinovaných metód konzervácie nedochádza k výrazným zmenám v zastúpení nasýtených a nenasýtených mastných kyselín v priebehu skladovania. Množstvo esenciálnych mastných kyselín sa však zvyšujúcou sa dávkou žiarenia, ako aj dlhším časom sterilizácie v priebehu skladovania znižuje. Z hľadiska stability lipidov je najvhodnejšia kombinácia termosterilizácie počas 32 min pri teplote 121 °C a dávok žiarenia 5 kGy.

plánovaný experiment; bravčové mäso; kombinovaná metóda konzervácie; termosterilizácia a ionizujúce žiarenie; mastné kyseliny

Kombinované metódy konzervácie potravín nachádzajú čoraz väčšie uplatnenie, pretože ich vhodným výberom sa môže uchovať v lepšej miere ich výživová a senzorická hodnota, ako je to v prípade využitia samostatne aplikovaných konzervačných metód. Medzi takéto metódy konzervácie potravín patrí aj kombinácia termosterilizácie s ionizujúcim žiarením.

Metóda konzervácie potravín ionizujúcim žiarením má celý rad výhod, avšak i napriek tomu nenachádza tak široké uplatnenie v priemyselnom meradle, ako sa pôvodne predpokladalo. Pozornosť výskumných pracovníkov sa preto zameriava na vypracovanie programov, ktoré by spotrebiteľ presvedčili o výhodách a zdravotnej nezávadnosti potravín. Aplikuje sa ožiarenie dávkou do 10 kGy, ktoré nevyvoláva nežiadúce zmeny, ale i napriek tomu je potrebné naďalej sledovať možné zmeny jednotlivých zložiek potravín (U p t o n, 1984; G i d d i n g s, 1983, 1984). Medzi labilné zložky potravín patria aj lipidy, preto sa rozsahu ich zmien

venuje zvýšená pozornosť (Delincéé, 1983; Nawar, 1984; Sowden, 1981; Vajdi et al., 1979; Sieghard et al., 1982).

V snahe rozšíriť tieto poznatky sme sa zamerali na zmeny mastných kyselín lipidov vzoriek bravčového mäsa, konzervovaných kombináciou termosterilizácie a ionizujúceho žiarenia, ktorá nadväzuje na prácu Takácsová et al. (1992).

MATERIÁL a METÓDY

Na prípravu modelového výrobku „Bravčové mäso vo vlastnej šťave“ sme použili bravčové stehno, ktoré sme rozdelili na orech, vrchný a spodný šál. Po odstránení šliach a tukovej vrstvy sme ho nakrájali na kocky s hranou 3 cm. Nakrájané mäso a spojivovú zložku sme premiešali s 1,6% prídavkom soli a plnili v rovnakom pomere do plechoviek so vsádzkovou hmotnosťou 420 g.

Uzavreté plechovky sme najprv sterilizovali v zariadení AUT 26/II v časovom rozsahu 15 až 70 minút. Po sterilizácii sme vzorky ožarovali na zariadení československej výroby so zdrojom žiarenia ^{60}Co , pričom dávky žiarenia boli v rozsahu 0,5 až 9,5 kGy.

Zmeny mastných kyselín lipidov vzoriek konzervovaných kombináciou termosterilizácie a ionizujúceho žiarenia sme porovnali s ich zastúpením v surovine (vzorka č. 0) a so zmenami vzoriek, konzervovaných klasickou sterilizáciou pri teplote 121 °C v priebehu 70 min (vzorka č. 14) priamo po konzervačnom zásahu ako aj po troj- a šesťtyždňovom skladovaní.

Dávky žiarenia a čas sterilizácie boli určené dvojfaktorovým plánom experimentu podľa ROUCEKOP (Lodes, Šimek, 1978; Kafarov, 1978). Faktormi boli čas sterilizácie v rozsahu 15 až 55 minút pri teplote 121 °C a dávky ožiarovania v rozsahu 0,5 až 9,5 kGy.

Pri analýze mastných kyselín sme použili tieto metódy:

- izoláciu lipidov použitím zmesi chloroform-metanol (2:1) (Folch et al., 1957),
- transesterifikáciu mastných kyselín 0,2% KOH v metanole (Holasová et al., 1971),
- plynovú chromatografiu mastných kyselín na CHROM 41. Použili sme sklenenú náplňovú kolónu o dĺžke 2,5 m a priemere 0,003 m, plnenú 20 % DEGJ na Chromosorbe P (zrornosť 0,251 až 0,195 mm). Podmienky: teplota vstrekovacieho priestoru 230 °C, teplota termostatu 180 °C, detektor plameňovoionizačný, tlak nosného plynu N_2 100 kPa, prietok vzduchu 0,25 l/min, prietok H_2 25 ml/min, citlivosť zosiľovača 1:1000, rozsah zapisovača 2 mV, riedenie vzorky hexanom 1:9, objem nastrekovanej vzorky 0,6 až 0,9 μl . Kvalitatívne zastúpenie mastných kyselín sme zistili pomocou štandardov a kvantitatívne vyhodnotenie chromatografických záznamov triangulačnou metódou (g na 100 g mastných kyselín).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vo vzorkách sme identifikovali prítomnosť 10 mastných kyselín; šiestich nasýtených (kaprinová, laurová, myristová, palmitová, heptadekánová a steárová) a štyroch nenasýtených (palmitolejová, olejová, linolová a linolénová).

Vo všetkých analyzovaných vzorkách bolo vyššie zastúpenie nenasýtených mastných kyselín (NeMK) ako nasýtených (NaMK). V najvyššom zastúpení bola kyselina olejová a z nasýtených mastných kyselín kyselina palmitová.

Analýzou sledovaných vzoriek v 0. deň skladovania sme nezaznamenali rozdiel v kvalitatívnom zastúpení mastných kyselín. Celkové množstvo nenasýtených mastných kyselín bolo najnižšie vo vzorkách pripravených klasickou sterilizáciou a vo vzorke č. 3, ožiarenej dávkou 8,1 kGy v kombinácii s krátkym časom sterilizácie - 21 minút, avšak rozdiely v zastúpení NeMK v jednotlivých vzorkách nie sú výrazné.

Množstvo esenciálnych mastných kyselín (EMK) je však podmienené dávkou žiarenia (γ), čo vyplýva aj z regresnej rovnice:

$$y_{\sum EMK_0} = 8,54846 + 0,14896 \gamma - 0,02741 \gamma^2$$

V priebehu 21-dňového skladovania dochádza k poklesu množstva NeMK takmer vo všetkých vzorkách. V tejto fáze skladovania je závislosť množstva EMK ovplyvnená dávkou žiarenia (γ) a časom sterilizácie (t). Vyššie zastúpenie EMK je podmienené predovšetkým nižšími dávkami žiarenia. Najvyššie úbytky EMK nastávajú v oblasti vysokých dávok žiarenia - nad 8 kGy a vplyvom dlhšieho času sterilizácie ako 42 minút:

$$y_{\sum EMK_{21}} = 8,77095 - 0,05456 \gamma + 0,00166 t - 0,00170 \gamma t$$

Po 42-dňovom skladovaní závislosť množstva NeMK je podmienená časom termosterilizácie podobne ako v počiatočnej fáze skladovania vzoriek. Množstvo esenciálnych mastných kyselín je však podmienené opäť aj dávkou žiarenia aj časom sterilizácie, pričom ich množstvo je závislé predovšetkým od dávky žiarenia:

$$y_{\sum EMK_{42}} = 8,36953 + 0,05976 \gamma - 0,00249 t - 0,01693 \gamma^2$$

Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že vplyvom kombinovaných metód konzervácie nedochádza k výrazným zmenám v zastúpení nasýtených a nenasýtených mastných kyselín v priebehu skladovania. Množstvo esenciálnych mastných kyselín však zvyšujúcou sa dávkou žiarenia a ako aj dlhším časom sterilizácie sa v priebehu skladovania znižuje. Pokles v zastúpení EMK v lipidoch steri-

I. Zastúpenie mastných kyselín v lipidoch vzoriek v priebehu skladovania [g na 100 g MK] -Fatty acid scores in sample lipids during storage (g per 100 g fatty acid)

Vzorka ¹			Skladovanie [dni] ³	Mastné kyseliny ⁴ [n = 3]													
č.	režim ²			10:0	12:0	14:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1	18:2	18:3	NaMK	NeMK	EMK	NeMK/ /NaMK
	kGy	min															
0	-	-	0	0,17	0,14	1,41	22,68	3,59	0,57	12,06	50,70	6,81	1,87	37,03	62,97	8,68	1,70
1	8,1	49	0	0,16	0,10	1,42	23,05	3,40	0,36	11,87	51,72	6,55	1,37	36,96	63,04	7,92	1,71
			21	0,20	0,14	1,53	23,49	4,14	0,46	12,16	50,13	6,53	1,22	37,98	62,02	7,75	1,63
			42	0,23	0,14	1,43	24,18	4,09	0,65	11,27	50,35	6,58	1,08	37,90	62,10	7,66	1,64
2	1,9	49	0	0,14	0,12	1,21	22,36	4,06	0,52	11,65	51,60	6,65	1,69	36,00	64,00	8,34	1,78
			21	0,23	0,14	1,25	24,27	3,80	0,47	12,59	48,74	7,01	1,50	38,95	61,05	8,51	1,57
			42	0,15	0,14	1,39	24,96	3,99	0,53	10,85	49,45	7,01	1,53	38,02	61,98	8,54	1,63
3	8,1	21	0	0,16	0,12	1,45	24,81	3,62	0,47	11,52	49,95	6,49	1,41	38,53	61,47	7,90	1,60
			21	0,15	0,12	1,31	23,24	4,06	0,43	11,82	50,75	6,74	1,38	37,07	62,93	8,12	1,70
			42	0,18	0,14	1,33	23,36	4,29	0,58	10,87	51,39	6,77	1,09	36,46	63,54	7,86	1,74
4	1,9	21	0	0,15	0,12	1,54	23,63	3,85	0,50	11,92	49,63	6,96	1,70	37,86	62,14	8,66	1,64
			21	0,24	0,14	1,30	24,20	4,30	0,47	12,27	48,50	7,08	1,50	38,62	61,38	8,58	1,59
			42	0,18	0,12	1,33	23,40	4,13	0,50	12,29	49,47	6,70	1,88	37,82	62,18	8,58	1,64
5	9,5	35	0	0,13	0,12	1,43	24,47	3,35	0,27	11,26	51,51	6,03	1,43	37,68	62,32	7,46	1,65
			21	0,22	0,14	1,49	23,82	4,23	0,40	13,17	48,90	6,32	1,31	39,24	60,76	7,63	1,55
			42	0,19	0,14	1,35	24,32	4,07	0,55	12,57	49,52	6,17	1,12	39,12	60,88	7,29	1,56

6	0,5		0	0,20	0,15	1,36	23,38	3,91	0,50	12,14	49,54	7,33	1,49	37,73	62,27	8,82	1,65
		35	21	0,30	0,16	1,42	23,88	4,68	0,58	11,21	49,00	7,45	1,32	37,55	62,45	8,77	1,66
			42	0,19	0,13	1,28	23,96	4,25	0,59	12,14	49,38	6,94	1,14	38,29	61,71	8,08	1,61
7	5,0		0	0,14	0,14	1,48	22,68	3,86	0,49	11,87	50,96	6,84	1,54	36,80	63,20	8,38	1,72
		55	21	0,21	0,14	1,28	24,07	3,80	0,53	12,26	49,50	6,78	1,43	38,49	61,51	8,21	1,60
			42	0,18	0,12	1,18	24,42	3,78	0,56	12,42	49,31	6,85	1,18	38,88	61,12	8,03	1,57
8	5,0		0	0,16	0,12	1,72	22,82	3,94	0,42	11,87	50,32	6,88	1,75	37,11	62,89	8,63	1,69
		15	21	0,18	0,12	1,07	23,62	3,51	0,37	11,36	51,32	7,00	1,45	36,72	63,28	8,45	1,72
			42	0,19	0,12	1,32	24,11	4,27	0,55	11,43	49,95	6,94	1,12	37,72	62,28	8,06	1,65
9	5,0		0	0,17	0,14	1,47	22,70	3,93	0,53	12,04	50,41	7,05	1,56	37,05	62,95	8,61	1,70
až 13		35	21	0,21	0,13	1,29	23,77	4,01	0,53	12,34	49,46	6,73	1,53	38,27	61,73	8,26	1,61
			42	0,19	0,13	1,28	24,17	3,77	0,58	11,65	50,08	6,85	1,30	38,00	62,00	8,15	1,63
14	-		0	0,14	0,09	1,52	24,60	3,91	0,27	11,91	48,89	7,14	1,53	38,53	61,47	8,67	1,60
		70	21	0,22	0,16	1,31	23,48	4,11	0,58	12,83	48,76	7,06	1,51	38,58	61,42	8,55	1,59
			42	0,19	0,13	1,34	24,69	3,67	0,51	11,43	49,58	6,74	1,72	38,29	61,71	8,46	1,61

¹ sample; ² regime; ³ storage (days); ⁴ fatty acids

lizovaných vzoriek v porovnaní so vzorkami konzervovanými kombinovanou metódou nie je výrazný.

Záverom možno konštatovať, že z hľadiska stability lipidov, ktorú sme sledovali nielen zastúpením mastných kyselín, ale aj množstvom primárnych a sekundárnych produktov autooxidácie a hydrolýzy je vhodná kombinácia dávok žiarenia 5 kGy a času sterilizácie 32 minút pri teplote 121 °C.

Literatúra

- DELINCÉE, H.: Recent advances in radiation chemistry of lipids. In: ELIAS, P. S. - COHEN, A. J. (Eds.): Recent advances in food irradiation. Amsterdam, Elsevier Biomedical Press 1983 : 89-114.
- FOLCH, J. - LEES, M. - STANLEY, G. H. S.: A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J. Biol. Chem., 226, 1957 : 497-509.
- GIDDINGS, G. G.: Radiation preservation of foods: substerilizing applications. J. Food Safety, 5, 1983 : 91-202.
- GIDDINGS, G. G.: Radiation processing of fishery products. Food Technol., 38, 1984 : 61-65 a 94-97.
- HOLASOVÁ, M. - JIROUŠOVÁ, J. - BLATTNÁ, J.: Stanovení kyseliny linolové a linolenové plynovou chromatografií. Prům. Potr., 22, 1971 : 127-129.
- KAFAROV, V. V.: Kybernetické metody v chemii a v chemické technologii. Bratislava, Alfa 1978 : 460 s.
- LODES, A. - ŠIMEK, I.: Štatistické metody plánovania experimentu. In: zbor. II. celoštát. Sem. OSCHI, Bratislava 1978 : 7-47.
- NAWAR, W. W.: Thermal and radiolytic decomposition of lipids. Food Technol., 38, 1984 : 49.
- SIEGHARD, A. - PAUL, G. - EHLERMANN, D.: Influence of ionizing radiation on the fatty acid composition of herring fillets. Radiat. Phys. Chem. 20, 1982 : 289-295.
- SOWDEN, R. E.: Gamma-radiation processing of food. Process Biochem., 16, 1981 : 43-49.
- UPTON, M.: How irradiation can help food processors. Technol. Irel., 16, 1984 : 27, 29-30.
- VAJDI, M. - NAWAR, W. W. - MERRIT, C.: Identification of radiolytic compounds from beef. J. Amer. Oil Chem. Soc., 56, 1979 : 611-615.

Došlo dňa 18. 7. 199

M. Takácsová, L. Šorman[†], S. Dudášová, A. Rajniaková, B. Hozová (Faculty of Chemical Technology of the Slovak Technical University, Bratislava, Slovak Republic)

Changes in the proportion of fatty acids of lipid samples preserved by the combination of the sterilization and of ionizing radiation

The gas chromatography method was used to study the changes in the proportion of fatty acids of lipids. The model product „Pork in natural juice“, preserved by combination of heat sterilization and ionizing radiation.

In a preparation of the trial and sample analysis we used the method of planned experiment. The results obtained were processed by the EC 10 10 computer on the program ROUCEKOP. We obtained regression equations characterizing the dependence of the proportion of fatty acids on the rate of radiation (γ) and sterilization time (t).

Changes in the proportion of fatty acids of the samples were compared during 0, 21 and 42-day storing with their representation in fresh meat (sample 0) and in the samples (sample 14) prepared by traditional sterilization method (Table I).

The presence of 10 fatty acids was identified in lipid samples, out of it 6 saturated. Higher portion of unsaturated fatty acids (NeMK) was recorded in all samples than in saturated ones (NaMK). Oleic acid was represented the most and palmitic acid out saturated fatty acids. During the storage no differences in qualitative representation were recorded. The total amount of unsaturated fatty acids was on the day 0 of storing in the samples prepared by traditional sterilization and in the sample 3, irradiated by the rate of 8.1 kGy in combination with short time of sterilization, though the differences in proportion of unsaturated fatty acids were not significant.

An amount of essential fatty acids (linoleic and linolenic acids) was conditioned by the rate of radiation on the day 0 what followed also from regression equation. During 21-day storing, their amount was influenced not only by the rate of radiation, but also by the sterilization time. It follows from the regression equation that higher representation of essential fatty acids (EMK) is conditioned mainly by lower rates of radiation. After 42-day storing, the amount of essential fatty acids is again affected by the rate of radiation and the time of sterilization as well, the effect of radiation is more marked, however (regression equation for 42nd day of storing).

It follows from the results achieved that due to combined methods of preservation, no significant changes in the total representation of saturated and unsaturated fatty acids appear during storage. The amount of essential fatty acids is falling with the rising radiation rate and longer time of sterilization. This drop is not significant with the changes of essential fatty acids of lipids of sterilized samples.

In conclusion it can be said that in the aspect of lipid stability which was studied by representation of fatty acids and by the amount of products of autooxidation and lipid hydrolysis (Part I), the combination of radiation rates of 5 kGy with the sterilization time of 32 minutes at the temperature 121 °C is suitable.

planned experiment; pork; combined method of preservation; heat sterilization and ionizing radiation; fatty acids

RECENZE

PRESENT KNOWLEDGE IN NUTRITION

SOUČASNÉ POZNATKY O VÝŽIVĚ

M. L. Brown (Ed.)

*International Life Sciences Institute, Nutrition Foundation Washington, D.C.,
1990 (šesté vydání) 532 stran*

Věda o výživě nabývá ve vyspělých zemích, především v USA, stále většího významu, o čemž svědčí i stoupající počet odborných publikací. Nadace pro výživu Mezinárodního ústavu pro vědu vydala v roce 1990 již šesté vydání obsáhlé monografie „Present Knowledge in Nutrition“. Proti prvnímu vydání v roce 1953 je kniha rozšířena o mnoho nových kapitol, takže celkový počet v šestém vydání dosáhl 59. Na jejich sepsání se podílelo 74 autorů z renomovaných výživářských pracovišť v USA.

Kapitoly tvoří devět tematických celků pokrývajících prakticky celou problematiku lidské výživy. Každá z kapitol s velkým počtem literárních citací je v podstatě monografií, shrnující velice přehledně současné poznatky o daném tématu.

První tematická skupina se týká energetických problémů lidského organismu – energetických požadavků, složení těla, hladovění a chuti k jídlu, obezity a proteinové a energetické malnutrice. V druhé tematické skupině je popisován současný stav znalostí o základních živinách – sacharidech, lipidech a bílkovinách, dále o vláknině a vodě. Třináct kapitol je věnováno chemii, analytice a biochemii jednotlivých vitamínů (A, D, E, K, kyselině askorbové, thiaminu, riboflavinu, vitamínu B₆, niacinu, vitamínu B₁₂, kyselině listové, biotinu a kyselině pantothenové).

Další tematický celek se zabývá výživovými aspekty minerálních látek (Ca, P, Mg, Na, Cl, K) a stopových prvků (Fe, Zn, Cu, Se, F, Mn, Cr, J a některé další). Výživě v určitých obdobích života – těhotenství a laktaci, dětském věku, dospívání a stáří je věnován další tematický celek. Je zde zařazena i kapitola o výživě a sportu.

Pozornost je dále věnována úloze výživy při některých chronických onemocněních – nemocech kardiovaskulárních, hypertenzi, diabetu, osteoporóze a osteomalácii, onemocnění ledvin a jater a nádorových onemocněních. Jsou popsány i otázky hodnocení výživového stavu obyvatelstva, doporučených výživových dávek, směrů výživy a perspektivy dalšího vývoje vědy o výživě.

Na závěr knihy je připojeno několik kapitol pojednávajících o speciálních problémech, jako je enterální a parenterální výživa, interakce léčiv s výživovými složkami, konzumace alkoholu, imunita a její vztah k výživě, toxické látky v potravinách a vztah geneticky podmíněných chorob k výživě.

Kniha, která je souhrnem současných poznatků o výživě, je na vysoké odborné úrovni a přitom je psána velice přehledně a srozumitelně. Je ji možné doporučit nejen výživářům, ale i potravinářům a pracovníkům dalších souvisejících oborů.

Ing. Jana Dostálová, CSc.

ZLOŽENIE AMINOKYSELÍN A MASTNÝCH KYSELÍN CELOZRNNEJ MÚKY Z CÍCEROV

Ladislav DODOK, Modhir ABID ALI, Viola BUCHTOVÁ, Gabriela HALÁSOVÁ,
Ivan POLÁČEK¹

Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava;

¹*Výskumný ústav krmovinárskeho priemyslu a služieb, 900 28 Ivanka pri Dunaji*

Sledoval sa obsah aminokyselín a mastných kyselín v celozrnnnej múke z cícerov, ktoré pochádzali z VÚRV v Piešťanoch a z Iraku. Zistený bol vysoký obsah lyzínu (7,39 g/16 g N, ev. 7,66 g/16 g N) a taktiež vysoké hodnoty sumy esenciálnych aminokyselín (36,35 g /16 g N, ev. 34,54 g /16 g N). Z mastných kyselín vykazovala vysoké hodnoty kyselina linolová (70,39 %, ev. 66,00 %). Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že analyzované vzorky surovín sa javia z hľadiska obsahu bielkovín a najmä zloženia aminokyselín, hlavne esenciálnych, ďalej zloženia mastných kyselín, ako aj niektorých dôležitých minerálnych látok a vitamínov sledovaných a uvedených v predchádzajúcej práci, ako hodnotné pre obohatenie niektorých cereálnych výrobkov.

cícer; aminokyselina; mastná kyselina; lyzín; kyselina linolová; celozrnná múka

Celozrnné múky z cícerov (D o d o k et al., 1992) podrobené ďalším analýzám za účelom zistenia podrobnejších informácií o ich chemickom zložení a porovnané so zahraničnými údajmi (J a y a , V e n k a t a r a m a n , 1980; S a i n i , K n i g h t s , 1984; M a t h u r et al., 1964).

MATERIÁL a METÓDY

Aminokyseliny boli stanovené na automatickom analyzátore aminokyselín AAA - T - 339 Mikrotechna Praha. Pri tejto metóde sa uplatňuje rozdeľovacia chromatografia na ionomeniči OSTION LG ANB, pričom sa využíva rôzna polarita delených zložiek na uvedenom ionomeniči upravenou metódou Spackmanna, Moora a Steina. Detekcia je fotometrická po predchádzajúcej ninhydrínovej reakcii. Výsledok fotometrickej detekcie sa zaznamenáva zapisovačom TZ 4 100 vo forme absorbancie, ktorá je úmerná koncentrácii danej aminokyseliny vo vzorke. Údaje v číslícovej forme vyhodnocuje digitálny integrátor model 26 °C,

a to retenčný čas vrcholov jednotlivých píkav a ich plochy. Retenčný čas aminokyselín je za konštantných elučných podmienok charakteristickou veličinou a slúži na identifikáciu aminokyselinového zloženia.

Hydrolyzát bol pripravený použitím kyseliny chlorovodíkovej ($c = 6 \text{ mol / dm}^3$) počas 24 h pri 105°C . Získané odparky aminokyselín boli prenesené do 25 cm^3 odmerných baniek s 10% kyselinou octovou.

Analýza aminokyselinovej zmesi prebieha na kolóne s ionomeničom v Na^+ cykle. Po automatickom dávkovaní vzorky sa aminokyseliny z kolóny vytesňujú sodno-citrátovými tlmivými roztokmi o pH 3,5; 4,25; 9,5 pri teplote $t_1 = 50^\circ\text{C}$ a $t_2 = 60^\circ\text{C}$.

Tryprofán bol stanovený metódou Roth a Schuster (P r í b e l a et al., 1979; D a v í d e k a kol., 1981). Navážené množstvo vzorky sa nitruje nitračnou zmesou a potom sa zahrieva 1 h na vriacom vodnom kúpeli. Vzorka sa ochladí, prefiltruje a filtrát sa v 50 cm^3 odmernej banke doplní 70% kyselinou sírovou. Intenzita vzniknutého žltého zafarbenia sa meria pri 420 nm. Analytická čiara bola zhotovená na kazeín.

Mastné kyseliny boli stanovené na plynovom chromatografe CHROM 5 (Laboratórní přístroje, s. p. Praha) (P r í b e l a et al., 1979).

Stanovenie mastných kyselín sa uskutočnilo za týchto špecifických podmienok: Kolóna: 2 m dlhá o priemere 2 mm; náplň: GP 10 % SP - 2330 na 100/120 Chromosorb WAW; teplota termostatu: 200°C ; prietok nosného plynu N_2 : $20 \text{ cm}^3/\text{min}$; detektor: FID.

VÝSLEDKY a DISKUSIA

Z výsledkov analýzy aminokyselinového zloženia (tab. I) vyplýva, že z esenciálnych aminokyselín v oboch vzorkách je zastúpená vo vysokom množstve limitujúca aminokyselina lyzín a taktiež je vysoká suma esenciálnych aminokyselín v porovnaní s pšeničnou múkou ($25,07 \text{ g}/16 \text{ g N}$). Vzájomné rozdiely medzi vzorkami cícera neboli natoľko významné. Boli však vyššie, ako uvádzajú niektorí zahraniční autori.

Zo zloženia mastných kyselín (tab. II) je evidentný vysoký obsah kyseliny linolovej. V obidvoch prípadoch je jej obsah vyšší ako u obilnín, ale aj sójového oleja (D a v í d e k et al., 1983). Podstatnejší rozdiel medzi vzorkami cícera bol v obsahu kyseliny olejovej.

Zo získaných výsledkov vyplýva, že táto surovina sa javí z hľadiska obsahu bielkovín a hlavne zloženia a obsahu aminokyselín, najmä esenciálnych, ďalej zloženia mastných kyselín, ako aj niektorých dôležitých minerálnych látok a vitamínov, ako hodnotná pre obohatenie niektorých cereálnych výrobkov vrátane tých, ktoré sú určené pre chorých na celiakiu.

I. Obsah aminokyselín u celozrnej múky z cícera - Amino acids content in chickpea whole grain flour

Aminokyselina ¹	Vzorka ²⁰ A		Vzorka B	
	g.kg ⁻¹	g. 16 g ⁻¹ N	g.kg ⁻¹	g. 16 g ⁻¹ N
Lyzín ²	18,52	7,39	16,38	7,66
Leucín ³	16,73	6,67	14,49	6,74
Izoleucín ⁴	10,20	4,06	7,14	3,32
Fenylalánin ⁵	18,46	7,40	13,18	6,13
Metionín ⁶	1,56	0,62	1,36	0,63
Treonín ⁷	8,39	3,35	7,72	3,60
Tryptofán ⁸	5,04	2,01	5,07	2,36
Valín ⁹	12,18	4,85	8,82	4,10
SEAMK	91,08	36,35	74,26	34,54
Alanín ¹⁰	10,34	4,12	9,16	4,26
Arginín ¹¹	19,13	7,63	17,96	8,35
Cystín ¹²	+	+	+	+
Glycín ¹³	9,62	3,84	8,21	3,82
Histidín ¹⁴	10,54	4,20	8,24	3,83
Kyselina asparágová ¹⁵	29,86	11,91	27,79	12,93
Kyselina glutámová ¹⁶	35,33	14,09	33,22	15,45
Prolín ¹⁷	10,74	4,28	11,36	5,28
Serín ¹⁸	11,51	4,60	10,38	4,83
Tyrozín ¹⁹	8,06	3,21	6,83	3,18
SOAMK	145,13	57,88	133,15	61,93

¹amino acid; ²lysine; ³leucine; ⁴isoleucine; ⁵phenylalanine; ⁶methionine; ⁷threonine; ⁸tryptophan; ⁹valine; ¹⁰alanine; ¹¹arginine; ¹²cystine; ¹³glycine; ¹⁴histidine; ¹⁵aspartic acid; ¹⁶glutamic acid; ¹⁷proline; ¹⁸serine; ¹⁹tyrosine; ²⁰sample

SEAMK = suma esenciálnych aminokyselín - sum of essential amino acids

SOAMK = suma ostatných aminokyselín - sum of the other amino acid

Vzorka A = celozrnná múka z cícera z Piešťan - chickpea whole grain flour from Piešťany

Vzorka B = celozrnná múka z cícera z Iraku - chickpea whole grain flour from Iraq

II. Obsah mastných kyselín v celozrnej múke z cícera - Fatty acid content in chickpea whole grain

Kyselina ¹	Vzorka ⁹ A	Vzorka B	Kyselina	Vzorka A	Vzorka B
Myristová ²	0,01	0,01	Olejová ⁶	17,37	28,44
Palmitová ³	6,32	5,08	Linolová ⁷	70,39	66,00
Palmitoolejová ⁴	0,01	0,002	Linolenová ⁸	0,64	0,3
Stearová ⁵	0,09	0,05			

¹acid; ²myristic; ³palmitic; ⁴palmitoleic; ⁵stearic; ⁶oleic; ⁷linoleic; ⁸linolenic; ⁹sample

Je reálna možnosť uplatnenia tejto suroviny aj v iných oblastiach potravinárskeho priemyslu.

Literatúra

- DAVÍDEK, J. a kol.: Laboratorní příručka analýzy potravin. Praha, SNTL 1981 : 720 s.
- DAVÍDEK, J. - JANÍČEK, G. - POKORNÝ, J.: Chemie potravin. Praha, SNTL 1983 : 630 s.
- DODOK, L. a kol.: Význam a využitie cícera v cereálnej technológii. I. Vlastnosti zrna a základné chemické zloženie celozrnnnej múky. Potr. Vědy, 10, 1992 : 303-308.
- JAYA, T. V. - VĚNKATAŘAMAN, L. V.: Effect of the germination on the nitrogenous constituents, essential amino acids, carbohydrates, enzymes and antinutritional factors in chickpea and greengram. Indian Food Packer, 34, 1980 : 3-11.
- MATHUR, R. S. - BINGAL, S. S. - SHARMA, R. D.: Lipid classes of *Cicer arietinum*. J. Nutrit., 84, 1964 : 201.
- PRÍBELA, A. - ŠORMAN, L. - SMIRNOV, V.: Návodý na laboratórne cvičenie z analýzy potravin. Bratislava, ES SVŠT 1979 : 388 s.
- SAINI, H. S. - KNIGHTS, E. J.: Chemical constitution of starch and oligosaccharide components of „Desi“ and „Kabuli“ chickpea seed lipids. J. Agric. Food Chem., 32, 1984 : 940-944.

Došlo dňa 11. 7. 1991

L. Dodok, Modhir Abid Ali, V. Buchtová, G. Halášová, I. Poláček
(Faculty of Chemical Technology, Slovak Technical University, Bratislava;
Research Institute of Feed Industry and Services, Ivanka pri Dunaji, Slovak Republic)

Composition of amino acids and fatty acids of the whole grain flour from chickpeas

The contents of amino acids and fatty acids in whole grain flour from chickpeas (*Cicer arietinum*) cultivated at the Research Institute of Plant Production at Piešťany and in Iraq were examined. From the analysis of amino acids in both samples there is a higher amount of the limiting amino acids lysine, as well as the sum of the essential amino acids in comparison with wheat flour (25.07 g/16 g N). A high content of lysine (7.39 g/16 g N and 7.66 g/16 g N, respectively) was found in whole grain flour from chickpea from Slovak and from Iraq, as well as high values of essential amino acids (36.35 g/16 g N and 34.54 g/16 g N, respectively).

A high linoleic acid content in whole grain chickpea flour is evident. In both samples its contents are higher than that in cereals, as well as in soybean oil. More considerable difference between both chickpea samples was recorded in oleic acid content (17.37 and 28.44, respectively). Contents of linoleic acid in Slovak chickpea are 70.39 and in Iraq chickpea 66.00.

On the basis of our results we may say that the analyzed (raw) material appears to be a valuable for the enrichment of some cereal products in view of protein content and especially from essential amino acids and fatty acids composition.

chickpea; amino acid; fatty acid; lysine; linoleic acid; whole grain flour

VYUŽITIE SYMBIÓZY PROPIÓNOVÝCH BAKTÉRIÍ S KVASINKAMI PRI FORTIFIKÁCII KYSLEJ KAPUSTY B VITAMÍNMI

Bernadetta HOZOVÁ, Jitka ČERNÁ¹, Lýdia ŽÁKOVÁ

Chemicko-technologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava;

¹Výzkumný ústav potravinářského průmyslu, Radiová 7, 102 31 Praha 10

Cieľom práce bolo sledovanie priebehu biosyntézy folacínu kyseliny pantoténovej a vitamínu B₆ v modelových vzorkách kyslej kapusty počas fermentácie (9 dní pri 20±2 °C) a skladovania (+4 °C), inokulovaných sólovo *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* kmeň Lyon 2 a v kombinácii s kvasinkou *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* (syn. *Kluyveromyces Fragilis* 269) v porovnaní s nezaočkovanou kontrolou v korelácii so zmenami pH a organoleptických vlastností. Folacín sa zvýšil päť až šesťnásobne (*P. shermanii* + *K. marxianus*) po 40 h fermentácie. V tých istých vzorkách sa zvýšila koncentrácia kyseliny pantoténovej o viac ako dvojnásobok, ale v porovnaní s prirodzene fermentovanou vzorkou boli hodnoty o niečo nižšie. Výsledky vitamínu B₆ boli kolísavé v priebehu fermentácie a skladovania. Vzorky inokulované *P. shermanii* + *K. marxianus* (ale aj len s *P. shermanii*) sa vyznačovali harmonickou chuťou, vôňou, konzistenciou (lepšou ako kontrola) až do konca skladovania (38 dní pri +4 °C).

folacín; kyselina pantoténová; vitamín B₆; symbióza propiónových baktérií a kvasiniek; fortifikácia potravín; kyslá kapusta

Baktérie propiónového kvasenia sa vyznačujú anaeróbnym katabolickým metabolizmom, ktorého hlavným produktom je kyselina propiónová, vo zvýšenej miere syntetizujú vitamín B₁₂ a folacín. V symbióze s bežnými mliekárenskými kultúrami, ako je napr. smotanová, acidofilná alebo jogurtová je však schopnosť biosyntézy týchto vitamínov skupiny B v mlieku významne potlačená. Zistilo sa, že prídavok kvasiniek skvasujúcich laktózu ku zmesi uvedených kultúr umožňuje propiónovým baktériám obnoviť pôvodnú schopnosť biosyntézy vitamínu B₁₂ a folacínu, a navyše obohatiť napr. mlieko aj o niektoré ďalšie vitamíny skupiny B (tiamín, riboflavín, B₆, kyselinu pantoténovú, niacín) (Č e r n á, 1986). Tento poznatok sa využíva v zahraničí na prípravu nutrične hodnotnej biomasy na báze srvátky alebo kukuričnej siláže pre kŕmne účely. U nás (regionálne) bola na tomto princípe zavedená výroba fermentovaných mliečnych nápojov (ELVIT) s niekoľkonásobne vyššou nutričnou hodnotou (Č e r n á, H r a b o v á, 1978). Autorky použili kmeň *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* Lyon 2

a kvasinku *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus*, vopred kultivované v mlieku.

Černá (1986) sa zmieňuje aj o pozitívnych výsledkoch koncentrácie vitamínov vo vzorkách smotanového zákysu, tvarohu, sušeného a kefirového mlieka. Tak napr. smotanový zákys obohatený kultúrou *P. shermanii* mal v porovnaní s neobohateným výrobkom zníženú koncentráciu tiamínu o 40 % a vitamínu B₆ o 13 %, zvýšenú koncentráciu folacínu o 73 % a vitamínu B₁₂ o 450 %. Ak sa k zákysu pridala súčasne kvasinka, zvýšila sa koncentrácia tiamínu o 20 %, niacínu o 200 %, vitamínu B₆ o 53 %, kyseliny pantoténovej o 30 % a enormne vzrástla koncentrácia folacínu a vitamínu B₁₂ oproti neobohatenému výrobku. Je to preto, že kvasinka produkuje do prostredia rastové faktory, nutné pre rast baktérií propiónového kvasenia, ale i pre biosyntézu vitamínu B₁₂, a tým aj folacínu, keďže ich metabolické cykly na sebe nadväzujú a vzájomne sa podmieňujú. Analogické závislosti sa našli aj vo vzorkách tvarohu, sušeného a kefirového mlieka.

Na základe uvedených poznatkov sme v našich experimentoch študovali možnosti obohatenia zeleninových výrobkov, napr. fermentovanej kapusty folacínom, kyselinou pantoténovou a vitamíno B₆ pomocou umelej inokulácie kmeňmi: 1. *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* Lyon 2 a 2. *P. freudenreichii* subsp. *shermii* Lyon 2 v symbióze s kvasinkou *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* (syn. *K. fragilis*, kmeň 269), a to počas fermentácie (9 dní pri 20±2 °C) a skladovania v chladiarenských podmienkach (+4 °C). Biosyntéza uvedených vitamínov bola sledovaná v korelácii so zmenami pH a organoleptických vlastností vzhľadom na neinokulovanú prirodzene fermentovanú kapustu (kontrola).

MATERIÁL a METÓDY

Použité kultúry mikroorganizmov – 1. *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*, kmeň Lyon 2 a 2. *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* (syn. *K. fragilis*, kmeň 269). Obidva kmene boli dodané v natívnom stave zo zbierky mikroorganizmov na VÚPP Praha.

Príprava vzoriek – Biela hlávková kapusta (asi 5 kg) bola očistená a nakrájaná na rezance, bola pridaná soľ (1,8 %) a malé množstvo rasce. Po dôkladnom premiešaní sa miešanka odvážila a rozdelila na tri diely po 1,5 kg.

K prvému dielu bolo pridané 10 ml 24h inokula *P. shermanii*, aktivovaného a pasážovaného (dva raz) na pôde podľa Neronovej a Jerusalemského (N e r o n o v a , J e r u s a l i m s k i , 1959) a 5 ml 24h inokula *K. marxianus* na 1 kg kapusty - vzorka A. Druhý diel sa zmiešal s 10 ml 24h inokula *P. shermanii* na 1 kg kapusty (kmeň bol aktivovaný pre biosyntézu vitamínov ako v prvom prípade)

- vzorka B a tretí diel bola neinokulovaná prirodzene fermentovaná vzorka (C), ktorá slúžila ako kontrola.

Jednotlivé vzorky kapusty sa plnili do vopred umytých, vysterilizovaných a označených pohárov, kapusta sa silne stlačila a po uzavretí pohárov boli vzorky pripravené na fermentáciu a skladovanie. Stanovenie folacínu bolo robené mikrobiologickou metódou s *Lactobacillus casei* ATCC 7469 podľa ČSN 56 0057, stanovenie kyseliny pantoténovej mikrobiologickou metódou so *Saccharomyces uverum* 4228 (ATCC 9080) podľa ČSN 56 0060 a stanovenie vitamínu B₆ mikrobiologickou metódou so *S. uvarum* 42 28 podľa ČSN 56 0065.

Stanovené sušiny bolo robené metódou, ktorú opísal P r í b e l a (1985). Pre senzorické hodnotenie bolo použité bodové hodnotenia a profil chutnosti (P r í b e l a, 1985) podľa päťbodovej schémy (tri hodnotitelia). Štatistické vyhodnotenia ($n = 4$) sme robili metódou, ktorú opísali E c k s c h l a g e r et al. (1980).

VÝSLEDKY a DISKUSIA

V tab. I, II a na obr. 1, 2 sú uvedené výsledky zmien pH zvolených vitamínov skupiny B: folacínu (čiastkové), kyseliny pantoténovej a vitamínu B₆ v modelových vzorkách kapusty analyzovaných počas fermentácie a skladovania. Výsledky stanovení sú vyjadrené v mg na kg jedlého podielu (tuhý podiel so šľavou), ako aj v mg na kg sušiny. Boli vypočítané percentá prírastku (príp. úbytku) jednotlivých sledovaných vitamínov vzhľadom na východiskový materiál (surová kapusta).

Folacín – Priebeh biosyntézy folacínu kmeňom *P. shermanii* Lyon 2 v symbióze s kvasinkou *Kluyveromyces marxianus* (vzorka A), *P. shermanii* Lyon 2 (vzorka B) v porovnaní s koncentráciou folacínu v neinokulovanej (vzorka C) a v surovej kapuste (vzorka S) sme pre objektívne príčiny (opakovaná inhibícia rastu testovacích kmeňov) mohli vyhodnotiť iba po 40 h fermentácie. Dosiahnuté čiastkové výsledky sumarizuje tab. I. Z nej vyplýva, že po 40 h od založenia pokusu bola koncentrácia folacínu vo vzorkách C a B približne rovnaká ako v surovej kapuste, pribl. 0,077 mg/kg j.p. (po prepočte na sušinu bol pokles výraznejší - o 20 %). Koncentrácia folacínu vo vzorke A po 40 h evidentne stúpala, t. j. približne o 500 %, po prepočte na sušinu asi o 390 %. Prudký nárast koncentrácie folacínu bol spôsobený niekoľkonásobne vyššou produkčnou schopnosťou *P. shermanii* v symbióze s kvasinkou, a to v priebehu 24 h (Č e r n á, 1986).

Priebeh zmien pH (tab. II) je typický pre mliečne fermentované výrobky. Nižšie pH (okolo 4,60) mali pochopiteľne výrobky inokulované propiónovými baktériami. Keďže po prvom dni fermentácie bol zistený rapidný pokles pH (z 6,53 v surovej kapuste na 4,62 pri vzorke A), dá sa predpokladať, že obohatenie

inokulovaných vzoriek folacínu by bolo ešte výraznejšie pri udržaní pH v rozmedzí 6,0 až 7,0, kedy prebieha v maximálnej miere biosyntéza folacínu a vitamínu B₁₂ (Č e r n á, 1986). Ku koncu fermentácie a počas celej dĺžky chladiarenského skladovania bolo pH sterilizované (3,46 až 3,48).

I. Koncentrácia folacínu po 40 h fermentácie modelových vzoriek kapusty - Concentration of folacine after 40 hours of fermentation of the cabbage model samples

Vzorka ¹	Sušina ⁴ [%]	$\bar{x}$ [mg.kg ⁻¹] (j. p.)	Prírastok, resp. úbytok ⁵ [%]	$\bar{x}$ [mg.kg ⁻¹] (sušiny)	Prírastok, resp. úbytok [%]
A (<i>P. shermanii</i> + <i>K. marxianus</i>)	10,5	0,460	+497	4,38	+387
B (<i>P. shermanii</i>)	10,5	0,075	-3	0,72	-20
C (kontrolná ²)	10,9	0,078	+1	0,72	-20
S (surová ³)	8,6	0,077	-	0,90	-

¹sample; ²control; ³fresh; ⁴dry matter; ⁵increase and/or decrease

Aj keď sme nedocielili úplné výsledky pri stanovení folacínu, možno predpokladať, že jeho hodnoty, najmä vo vzorke A, by ešte stúpali, resp. by sa udržali na počiatočnej úrovni.

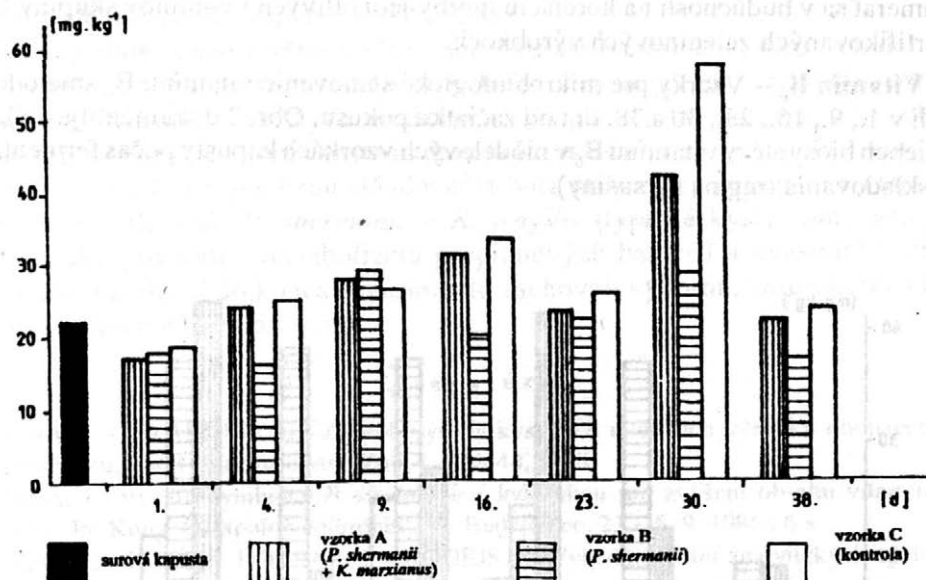
II. Hodnoty pH modelových vzoriek kapusty počas fermentácie a skladovania - pH values of the cabbage model samples during fermentation and storing

pH vzoriek ¹	Čas fermentácie a skladovania (dni) ³							
	0	1	4	9	16	23	30	38
A (<i>P. shermanii</i> + <i>K. marxianus</i>)	6,53	4,62	4,38	3,47	3,46	3,58	3,52	3,47
B (<i>P. shermanii</i>)	6,53	4,60	4,35	3,53	3,44	3,71	3,48	3,48
C (kontrolná ²)	6,53	5,05	4,45	3,51	3,47	3,61	3,46	3,48

¹pH of samples; ²control; ³time of fermentation and storing (days)

Keďže biocykly folacínu a vitamínu B₁₂ sú navzájom prepojené, je odôvodnený predpoklad, že hodnoty vitamínu B₁₂ vo vzorke A by korelovali s hodnotami folacínu a boli by niekoľkonásobne vyššie ako v ostatných modelových vzorkách.

Kyselina pantoténová - Vzorky pre stanovenie kyseliny pantoténovej sme odoberali v 1., 4., 9., 16., 23., 30. a 38. dni od založenia pokusu. Obr. 1 dokumentuje celkový priebeh biosyntézy kyseliny pantoténovej v modelových vzorkách kapusty počas fermentácie a skladovania (mg na kg sušiny). Po prvom dni



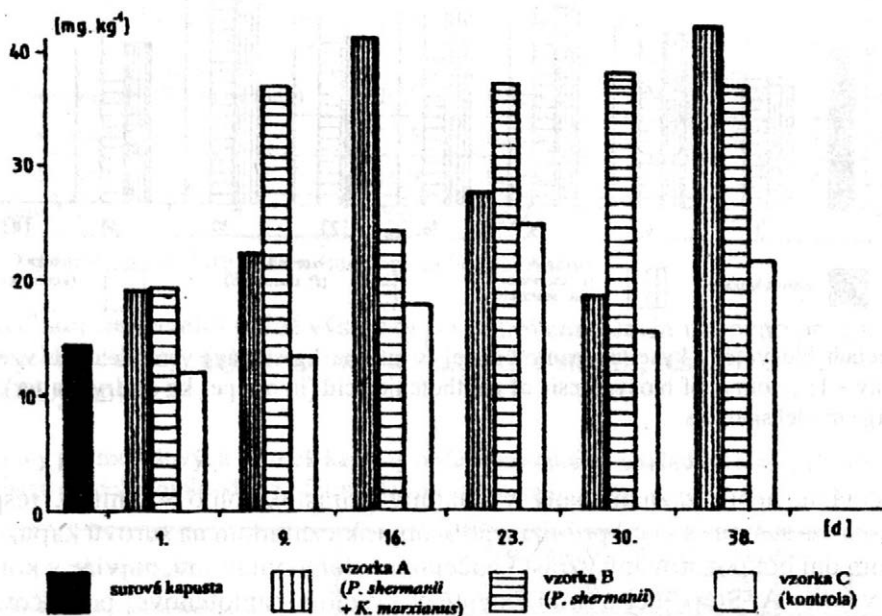
1. Priebeh biosyntézy kyseliny pantoténovej (v mg na kg sušiny) v modelových vzorkách kapusty - The course of biosynthesis of pantoic acid (in mg per kg of dry matter) in the cabbage model samples

fermentácie nebol zaznamenaný významný prírastok tohto vitamínu, resp. po prepočte na sušinu sa zistil približne 20% úbytok vzhľadom na surovú kapustu. Po štvrtom dni bol pozorovaný vzrast koncentrácie tohto vitamínu, najviac v kontrole a vo vzorke A. Stúpajúci trend biosyntézy kyseliny pantoténovej pokračoval do 16. dňa od založenia pokusu (prírastok 38 a 46 %). Maximálny vzostup tohto vitamínu bol dosiahnutý po 30. dni fermentácie a skladovania vo vzorke A (83 %) a vo vzorke C (až 154 %), čo možno vysvetliť dodatočným uvoľnením z väzieb na bielkoviny a polysacharidy (ČSN 56 0060). Na konci experimentu koncentrácie kyseliny pantoténovej znovu poklesla, čo mohlo byť zapríčinené nízkym pH vzoriek (3,46) a jej pravdepodobnou deštrukciou počas chladiarenského skladovania (Cheng, Eitenmiller, 1988).

Z obr. 1 vidieť, že aj keď počas fermentácie a skladovania modelových vzoriek kapusty bola koncentrácia kyseliny pantoténovej vo vzorkách A väčšia ako vo vzorke B (asi dvojnásobne), celkove boli tieto hodnoty nižšie ako v kontrolnej vzorke C. Tento jav možno vysvetliť tým, že prirodzená mikroflóra vo všetkých vzorkách síce produkuje kyselinu pantoténovú, avšak táto sa vo vzorkách A a B, inokulovaných *P. shermanii*, odbúravá, nakoľko je jednou z esenciálnych zlúčenín nevyhnutných pre biosyntézu folacínu (Černá, 1986). Bolo by preto zaujímavé

zameriť sa v budúcnosti na koreláciu tvorby jednotlivých vitamínov skupiny B vo fortifikovaných zeleninových výrobkoch.

Vitamín B₆ – Vzorok pre mikrobiologické stanovenie vitamínu B₆ sme odoberali v 1., 9., 16., 23., 30 a 38. dni od začiatku pokusu. Obr. 2 dokumentuje celkový priebeh biosyntézy vitamínu B₆ v modelových vzorkách kapusty počas fermentácie a skladovania (mg na kg sušiny).



2. Priebeh biosyntézy vitamínu B₆ (v mg na kg sušiny) v modelových vzorkách kapusty - The course of biosynthesis of vitamin B₆ (in mg per kg of dry matter) in the cabbage model samples

Z obr. 2 vyplýva, že koncentrácia vitamínu B₆ vo vzorke A inokulovanej *P. shermanii* + *K. marxianus* stúpala do 16. dňa (z 14,6 mg/kg na 41,5 mg na kg suš., t. j. prírastok +184 %). Od 23. dňa do konca skladovania hodnoty kolísali, ako je zrejmé aj z obrázku.

Priebeh biosyntézy vitamínu B₆ vo vzorke inokulovanej *P. shermanii* poukazuje na postupné narastanie jeho koncentrácie počas fermentácie až na hodnotu 37,1 mg/kg, t. j. o 154 %. Pokles koncentrácie vitamínu B₆ po 16. dni však naznačuje, že z ďalšieho priebehu pokusov nemožno posúdiť objektívne závery.

Koncentrácie vitamínu B₆ vo vzorke C (kontrola) variovala počas pokusu v intervale od 12,1 do 25,2 mg na kg sušiny.

Z výsledkov senzorického hodnotenia (bodové hodnotenie, profil chutnosti) vyplynulo, že počas fermentácie a skladovania sa zlepšili postupne organoleptické vlastnosti všetkých modelových vzoriek (vôňa, konzistencia, chuť) a udržali sa tak až do konca experimentu (výborná farba a vzhľad). Po ukončení fermentácie a tiež v priebehu skladovania bola senzoricky najlepšie hodnotená vzorka inokulovaná *P. shermanii* + *K. fragilis* (typická kyslá chuť, ostrejšia v dôsledku produktov metabolizmu propiónových baktérií a kvasiniek). Tieto modeové vzorky si do konca experimentu zachovali výbornú, harmonickú chuť, vôňu a primeranú konzistenciu.

Literatúra

- ČERNÁ, J. - HRABOVÁ, H.: Způsob výroby kysaných mléčných výrobků obohacených vitamíny skupiny B. Autorské osvědčení č. 174444, 1978.
- ČERNÁ, J.: Využití symbiosy *P. shermanii* s kvasinkou pro zvýšení obsahu vitamínů B v mléce. In: Kong. Čs. společ. mikrobiol., Č. Budějovice, 23.-25. 9. 1986 : 6 s.
- ECKSCHLAGER, K. - HORSÁK, I. - KODEJŠ, Z.: Vyhodnocování analytických výsledků a metod. Praha 1980 : 220 s.
- CHENG, T. S. - EITENMILLER, R. R.: Effects of processing and storage on the pantothenic acid content of spinach and broccoli. J. Food Proc. Preserv. 12, 1988 : 115-123
- NERONOVA, N. M. - JERUSALIMSKI, N. D.: Mikrobiologija, 28, 1959 : 647.
- PRÍBELA, A.: Analýza potravín. Bratislava, ES SVŠT 1985 : 153 s.
- ČSR 56 0057: Stanovení folacinu v poživatinách. 1981.
- ČSN 56 0060: Stanovení kyseliny pantothenové v poživatinách. 1983.
- ČSN 56 0056: Stanovení vitamínu B₆ v poživatinách. 1981.

Došlo dňa 25. 7. 1991

B. Hozová, J. Černá, L. Žáková (Faculty of Chemical Technology, Slovak Technical University, Bratislava, Slovak Republic; Research Institute of Food Industry, Praha, Czech Republic)

Utilization of propionic bacteria in symbiosis with yeasts for sauerkraut fortification with B vitamins

The aim of this work was to study the biosynthesis of some B vitamins (folacine, B₆, pantothenic acid), changes of pH and sensory properties (appearance, colour, flavour, consistency) during fermentation (8-9 days at 20 + 2 °C) and storage (+ 4 °C) of model cabbage samples inoculated with *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* Lyon 2 solely and in combinations with *Kluyveromyces marxianus* var.



marxianus (syn. *Kluyveromyces fragilis* 269), and a comparison with the control (naturally fermented cabbage).

These microorganisms were used in the experiments: *Propionibacterium freudenreichi* subsp. *shermanii* Lyon 2, *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* (Collection of microorganisms, RJFI, Prague). Vitamins were determined by microbiological methods using: *Lactobacillus casei* ATCC 7469 for folacine (ČSN 56 0057), *Saccharomyces uvarum* ATCC 9080 for vitamin B₆ (ČSN 56 0060) and *S. uvarum* ATCC 9080 for pantothenic acid (ČSN 56 0056). Point-scale evaluation, profiling of tastiness (P r í b e l a, 1985) .

After 40 hrs of fermentation, folacine content in the combination of propionic bacteria with yeasts increased from 0.077 mg/kg (c.p.) by more than 500 % (390 d.m.) - Table I and was almost unchanged in the other variants of experiments.

The content of pantothenic acid increased by 83 % after 30-day storage in the samples inoculated with *P. shermanii* Lyon 2 + *K. marxianus* in comparison with 24 times increase in the samples inoculated with *P. shermanii* solely and with 154 % in control samples (Fig. 1).

The content of vitamin B₆ varied during fermentation in all samples so that no strict conclusions can be made. Samples inoculated with *P. shermanii* + *K. marxianus* revealed an excellent flavour, consistency and retained these properties until the end of storage (i. e. 38 days after inoculation).

folacine; pantothenic acid; vitamin B₆; symbiosis of propionic bacteria nad yeasts; food fortification; sauerkraut

VPLYV KULINÁRNEHO SPRACOVANIA A UDRŽIAVANIA ZELENINY NA OBSAH DUSIČNANOV

Agáta FARGAŠOVÁ

*Chemickotechnologická fakulta, Slovenská technická univerzita,
Radlinského 9, 812 37 Bratislava*

V rokoch 1989 a 1990 sa sledoval obsah dusičnanov v surovej a kuchynsky spracovanej zelenine. Stanovenia sa robili na zemiakoch, mrkve, zeleri, kalerábe, hlávkovom šaláte a kyslej kapuste. Dusičnany sa stanovovali potencio-metrickou metódou pomocou iónovo-selektívnej dusičnanevej elektródy (ISE). Hygienickým kritériom bolo rozhodnutie č. HE-594/90-08 z 12. 3. 1990, vydané hlavným hygienikom Slovenskej republiky, a smernica Ministerstva zdravotníctva (MZd. č. 35/1977). Z práce vyplynulo, že v jarých mesiacoch sú problematické predovšetkým rýchlené druhy zeleniny (kaleráb, šalát), z ktorých sa však varením dobre uvoľňujú živiny, čím sa znižuje aj obsah dusičnanov. Ostatné druhy zeleniny, ktoré sa skladovali v priebehu zimy (mrkva, zemiaky, zeler, ako aj kyslá kapusta) sa nejavili z hľadiska obsahu dusičnanov ako problematické.

dusičnany; mrkva; kaleráb; zeler; zemiaky; hlávkový šalát; kyslá kapusta;
kuchynské spracovanie

V súčasnosti sa na celom svete venuje zo zdravotného hľadiska veľká pozornosť výskytu dusičnanov a dusitanov v poľnohospodárskych surovinách a v potravinárskych výrobkoch. Na obsah dusitanov, ktoré vznikajú redukciou dusičnanov v zelenine, má vplyv ako spôsob uskladnenia (Schuphan, Schottman, 1965; Hall, Hicks, 1977), tak aj spôsob manipulácie pri preprave a použitá technológia pri spracovaní (Prugar, Prugarová, 1985). Sledovaním množstva dusitanov pri skladovaní niektorých druhov zeleniny po tepelnej úprave sa vo svojej práci zaoberali Hall a s o v á et al. (1970). Zmeny v obsahu dusitanov záviseli od obsahu dusičnanov v pôvodnej vzorke a od výšky teploty, pri ktorej sa vzorka skladovala.

Obsah dusičnanov sa môže výrazne znížiť aj počas konzervárenského spracovania, napr. pri umývaní a blanžírovaní zeleniny. Podobne je to aj pri kuchynskom spracovaní zeleniny varením, keď rozpustné soli vrátane dusičnanov prechádzajú do výluhu. Môže to znamenať až 80% zníženie pôvodného obsahu

dusičnanov (Plain, 1977; Bečka et al., 1982). Veľkosť úbytku závisí od druhu zeleniny a spôsobu jej spracovania (Kennedy, Walsh, 1975). Pri intenzívnom praní a najmä vylúhovaní do vývaru alebo do blanžirovacej vody však dochádza nielen k úbytku nežiadúcich dusičnanov, ale aj mnohých nutrične pozitívnych látok, ako sú vitamíny a minerálne látky, niektoré sacharidy a pod.

MATERIÁL a METÓDY

Rozdiely v obsahu dusičnanov sme sledovali v rokoch 1989 a 1990 nasledujúcich druhoch zeleniny, zakúpených v obchodnej sieti: koreňová zelenina – mrkva, zeler; hlúbová zelenina – rýchlený kaleráb; listová zelenina – rýchlený hlávkový šalát; okopaniny – zemiaky. Mrkva bola čistá a pomerne mäkká s priemernou dĺžkou koreňa 120 mm a priemerom 25 až 30 mm. Zeler bol veľký s priemernou dĺžkou koreňa 135 mm a priemerom 110 mm, tvrdý a dobre skladovaný. Kaleráby a hlávkový šalát boli zakúpené v mesiaci marci. Kaleráby boli pomerne malé (priemer 45 až 50 mm) a čerstvé, šalát bol úplne čerstvý a hlávky boli tvrdé. Zemiaky boli pomerne malé, mäkké a nie v najlepšom stave. Z potravinársky spracovanej zeleniny sa použila kyslá kapusta, ktorá bola úplne skvasená a zakúpená na trhu.

Pri všetkých druhoch zeleniny sa stanovoval celkový obsah dusičnanov v surovej zelenine, vo vývare z nakrájanej zeleniny po varení, v odkvapkanej zelenine po varení a v odkvapkanej zelenine po druhej, prípadne tretej extrakcii. Druhá a tretia extrakcia predstavovala opätovný analytický postup s použitím extrakčného činidla na už uvarenej a odkvapkanej zelenine použitej na prvú, prípadne druhú extrakciu. Zelenina sa varila v prípade mrkvy a zemiakov 20 minút, zeler, kaleráb a kyslá kapusta sa varili 25 min a hlávkový šalát 10 minút. Extrakčné činidlo malo zloženie: 6,66 g $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18 \text{H}_2\text{O}$ a 2,5 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ na litr.

Stanovenie obsahu dusičnanov sme robili dusičnanovou iónovo-selektívnou elektródou CRYTUR. Reprezentatívne vzorky zeleniny sme pripravili zo 7 až 10 kusov, ktoré sa v prípade stanovenia celkového obsahu dusičnanov v surovej zelenine len zhomogenizovali. Pri varenej zelenine sa odvážilo 100 g celých segmentov, ktoré sa varili v 1 l vody. Z vývaru sme pripravili extrakčné činidlo (zabránilo sa tým ďalšiemu riedeniu vzorky, do ktorej sa už dusičnany uvoľnili) a v ňom sme priamo stanovovali množstvo dusičnanov uvoľnených varením. V odkvapkanej vzorke sme po zhomogenizovaní stanovovali obsah dusičnanov ako pri surovej zelenine. Extrakcie sme v zhomogenizovanej uvarenej vzorke opakovali (druhá a tretia extrakcia) až kým obsah dusičnanov vo vylúhovadle neklesol na stopové množstvo. Všetky stanovenia sme robili v piatich paralelných vzorkách a v práci sú uvádzané ich priemerné hodnoty.

VÝSLEDKY a DISKUSIA

Výsledky zo stanovenia obsahu dusičnanov v jednotlivých druhoch zeleniny pred kulinárnym spracovaním a po ňom sú uvedené v tab. I.

I. Obsah dusičnanov v jednotlivých druhoch čerstvej a kulinárne spracovanej zeleniny [$\text{mg.kg}^{-1} \text{NO}_3^-$] - Content of nitrates in the individual sorts of fresh and kitchen handled vegetables [$\text{mg.kg}^{-1} \text{NO}_3^-$]

	Zemiaky ¹		Mrkva ²		Zeler ³		Kaleráb ⁴		Šalát ⁵		Kyslá kapusta ⁶	
	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S
1	130,28	1,876	191,66	3,386	79,1	3,984	1624,0	7,76	2340,0	5,128	257,6	6,18
2	105,80	1,078	139,68	1,183	50,2	3,068	1475,6	8,876	1896,0	12,24	224,0	3,06
3	28,4	9,897	45,12	2,612	23,2	2,403	253,4	11,016	473,5	4,182	41,1	4,029
4	19,66	1,703	12,58	1,315	-	-	39,8	2,748	20,02	0,520	28,5	1,785
5	200	-	500	-	500	-	1500*	-	3000*	-	400*	-
6	145	-	365	-	365	-	1095*	-	2190*	-	290	-
7	-	-	-	-	-	-	15,78	2,612	-	-	-	-

¹potatoes; ²carrot; ³celery; ⁴kohlrabi; ⁵lettuce; ⁶sauerkraut

1 = celkový obsah dusičnanov v surovej zelenine - nitrate content in raw vegetable

2 = obsah dusičnanov vo vývare z nakrájanej zeleniny - nitrate content in decoction from cut vegetable

3 = obsah dusičnanov v uvarenej odkvapkanej zelenine - nitrate content in cooked vegetable

4 = obsah dusičnanov v uvarenej odkvapkanej zelenine po druhej extrakcii - nitrate content in cooked vegetable after second extraction

5 = najvyššie prípustné množstvá dusičnanov vyjadrených ako NaNO_3 - the highest allowable nitrates quantity expressed as NaNO_3 [mg.kg^{-1}]

6 = najvyššie prípustné množstvá dusičnanov vyjadrené v NO_3^- - the highest allowable nitrates quantity expressed as NO_3^- [mg.kg^{-1}]

7 = obsah dusičnanov v uvarenej odkvapkanej zelenine po tretej extrakcii - nitrate content in cooked vegetable after third extraction

A = obsah NO_3^- v mg.kg^{-1} - content of NO_3^- in mg.kg^{-1}

S = smerodajná odchýlka - standard deviation

hodaoty s vyznačením nevhodnosti pre dojčatá - values unsuitable for infants

* hodnota uvádzaná smernicou MZd SSR č. 35/1977 - values according to the decree of the Ministry of Health of the Slovak Republic, No. 35/1977

Z tab I. vyplýva, že obsah dusičnanov v skladovaných a do obchodnej siete distribuovaných zemiakoch spĺňa hygienické kritériá. Zemiaky sú celkovo hodno-

tené ako málo problematická plodina z hľadiska celkového obsahu dusičnanov (P r u g a r, P r u g a r o v á, 1985). Značná časť dusičnanov sa varením uvoľnila do výluhu (105,8 mg NO₃ na 1 kg) a v odkvapkaných varených zemiakoch sa stanovilo už len 28,4 mg NO₃ na 1 kg po prvej a 19,66 mg NO₃ na 1 kg po druhej extrakcii. Toto zodpovedá výsledkom, ktoré uvádzali B e č k a et al. (1982), podľa ktorých sa obsah dusičnanov vo varených zemiakoch znižuje na 1/4 až 1/5 pôvodných hodnôt. V našom prípade sa obsah dusičnanov znížil na 21,8 %. Problematickým je však potom využívanie vývarov, napr. pri príprave polievok, v ktorých je obsiahnutá značná časť dusičnanov (78,2 %).

V porovnaní s výsledkami, ktoré uverejnili K e n n y a W a l s h e (1975), bol obsah dusičnanov v nami hodnotenej mrkve a zeleri oveľa nižší. Kým uvádzaní autori udávajú pre čerstvú zeleninu priemerné hodnoty NO₃ pri mrkve 771 mg/kg a pri zeleri 2711 mg/kg, nami zistené hodnoty boli pri čerstvej mrkve 191 mg/kg a pri zeleri 79,1 mg/kg (tab. I). Rovnako boli v porovnaní s uvádzanými autormi nízke aj hodnoty v uvarenej zelenine. Na rozdiel od udávaných priemerných hodnôt dusičnanov v uvarenej mrkve (465 mg/kg) a v uvarenom zeleri (1209 mg/kg), boli nami namerané hodnoty pri mrkve len 45,12 mg/kg a pri zeleri 23,2 mg/kg. Úbytok dusičnanov bol pri mrkve 76,5 % a pri zeleri 70,67 %, čo je oveľa vyššie percento ako udávajú spomínaní autori (pri mrkve udávajú priemerný úbytok dusičnanov 40,1 % a pri zeleri 55,5 %). Nami testované a v obchodnej sieti zakúpené vzorky mrkvy a zeleru plne vyhovovali požiadavkám na obsah dusičnanov v týchto zeleninových druhoch. Na rozdiel od zemiakov a mrkvi bol v zeleri nízky ako celkový obsah dusičnanov v surovej zelenine (79,1 mg/kg), tak aj vo výluhu (50,2 mg/kg) a uvarenej zelenine (23,2 mg/kg), takže sa už druhá extrakcia nerobila.

Významnejšie odchýlky od povolených hodnôt dusičnanov sme zaznamenali len pri analyzovaní vzoriek rýchleného kalerábu a rýchleného hlávkového šalátu. Pri kalerábe a šaláte obsah dusičnanov nespĺňal hygienické požiadavky. Tieto druhy zeleniny patrili k rýchlenej zelenine, ktorá bola pestovaná voľne v dňoch so slabou intenzitou svetla, čo spôsobilo zvýšenie obsahu dusičnanov. Obsah dusičnanov v kalerábe po varení prudko klesol (až na 15,6 %) a po druhej extrakcii na 2,45 %, čo dokazuje dobré uvoľňovanie dusičnanov z tohto zeleninového druhu. Ako sa uvádza v literatúre (V e n t e r, 1978), obsah dusičnanov v kalerábe závisí ako od intenzity hnojenia, tak aj od veľkosti buľvy.

Z hlávkového šalátu sa pred prípravou vzorky odstránili staršie vonkajšie listy. Šalát sa varil len 10 minút a jeho varenie sa používalo ako teoretická štúdia v porovnaní s ostatnými zeleninovými druhmi. Po jeho varení tiež poklesol obsah dusičnanov na 20,24 % a po ďalšom vylúhovaní až na 0,85 %. Dusičnany sa teda z neho uvoľňujú tak, ako aj pri rýchlenom kalerábe, veľmi dobre. Obsah dusičnanov v hlávkovom šaláte závisí, ako uvádza V e n t e r (1978), aj od intenzity slnečného žiarenia. Ním zistené hodnoty pre hlávkový šalát pestovaný v polotieni

sa približujú k nameraným hodnotám pre tento druh listovej zeleniny, čo dokazuje, že v jarých mesiacoch, kedy bol šalát zberaný, môžeme jeho vysoký obsah dusičnanov pripísať vplyvu vonkajšieho prostredia, predovšetkým nedostatočnej intenzite svetla.

Pri kyslej kapuste zodpovedal obsah dusičnanov požiadavkám, ktoré na konzervované zeleninové výrobky kladie smernica MZd. č. 35/1977. Varením sa v nej obsah dusičnanov znížil až o 84 %, takže je vhodná na prípravu hotových pokrmov, o ktorých informácie poskytli na základe analýz A c h t z e h n a H a w a t (1984).

Z uvádzaných výsledkov vyplýva, že varením sa obsah dusičnanov v zeleninách znižuje na 1/4 až 1/5, ako uvádzajú aj P l a i n o v a (1977) a B e č k a et al. (1982). Problematickým zostáva len výluh, do ktorého prechádza až okolo 80 % dusičnanov. Z toho dôvodu by bolo výhodné pri niektorých zdravotných problémoch vývar nepoužívať, alebo ho po určitom čase varenia zliať a zeleninu dovariť v ďalšej vode.

Literatúra

- ACHTZEHN, M. K. - HAWAT, H.: Epidemiologische Studien über die Belastung des menschlichen Organismus mit Nitraten und Nitriten in der DDR. Ref. Konf. Hyg. Výž. Karlovy Vary, 1984.
- BEČKA, J. - MÍČA, B. - VOKÁL, B.: Změny v obsahu dusičnanového dusíku v syrových a vařených bramborových hlízách. Rostl. Výr., 28, 1982 : 181-188.
- HALL, C. B. - HICKS, J. R.: Nitrites inoculated carrot juice as a function of nitrate content and temperature. J. Food Sci., 42, 1977 : 549-550.
- HLAVSOVÁ, D. - TUČEK, J. - TUREK, B.: Hygienický význam redukce dusičnanů v zelenině. Českoslov. Hyg., 15, 1970 : 264-269.
- KENNY, T. A. - WALSHE, P. E.: Nitrate and nitrite contents of vegetables and fruit in Ireland. Irish J. agric. Res., 14, 1975 : 349-355.
- PLAIN, J. M.: Nitrates and nitrites in foods. Food and Nutrit. Notes, 34, 1977 : 49-54.
- PRUGAR, J. - PRUGAROVÁ, A.: Dusičnany v zelenine. Bratislava, Príroda 1985.
- SCHUPHAN, W. - SCHLOTTMAN, H.: N-Überdüngung als Ursache hoher Nitrat und Nitritgehalte des Spinats (*Spinacia oleacea* L.) in ihrer Beziehung zur Säuglings-Methämoglobinämie. Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 128, 1965 : 71-75.
- VENTER, F.: Über den Nitratgehalt von Gemüse. Ind. Obst u. Gemüseverw., 63, 1978 : 117-120.

Došlo dňa 26. 8. 1991

*A. Fargašová (Faculty of Chemical Technology, Slovak Technical University,
Bratislava, Slovak Republic)*

Influence of culinary processing and holding of vegetables on content of nitrates

In the years 1989 and 1990 the influence of the kitchen cooking on the content of nitrates in vegetables was studied. The content of nitrates was tested in potatoes, carrots, celery, young kohlrabi, lettuce and sauerkraut. A method with a ion-selective nitrate electrode (ISE) was used to determine the nitrates. It followed from the work that among spring forced vegetables kohlrabi and lettuce were problematic. The content of nitrates in these sorts of vegetables was very high, but with cooking the nutrients were released very well into the cooking water and the content of nitrates in the cooking vegetables was lowered. By cooking the concentration of nitrates in kohlrabi decreased by about 84.4 % (Table I). Similar situation was for lettuce - concentration of nitrates was very high. By cooking the concentration decreased by about 79.8 % (Table I). The forced vegetables were bought in greengroceries in March.

The other sorts of vegetables used were stored after collection. They were bought also in greengroceries during the months of December to March. As we can see from Table I all of these sorts are corresponding to the values permitted by the decree, number HE-594/90-80 from March 12, 1990 published by the chief hygienist of Slovak Republic controlling the highest allowable amounts of nitrates in vegetables and potatoes. The concentrations of nitrates were low in these cases. By cooking the content of nitrates decreased in carrots by about 76.5 %, in celery by about 70.67 %, and in potatoes by about 78.2 % (Table I). The concentration of nitrates also rapidly decreased by cooking. But there is a problem that together with nitrates also the concentration of many positive substances of nutrition, such as vitamins, mineral salts and some saccharide, simultaneously decreased.

The same results were obtained when sauerkraut was tested. Also in this sort of vegetable the value of nitrates was corresponding to the standard for conversion of vegetable products (Decree of the Ministry of Health No.35/1977). By cooking the concentration of nitrates decreased by about 84 % (Table I) and so it was suitable for preparing the foods.

nitrates; carrot; kohlrabi; celery; potatoes; lettuce; sauerkraut; culinary processing

PŘEHLEDY

MOŽNOSTI PRŮNIKU POLYCHLOROVANÝCH DIBENZO-p-DIOXINŮ A DIBENZO-FURANŮ DO POTRAVNÍCH ŘETĚZCŮ

Pavel KALÁČ, Jan TRÍŠKA¹

*Zemědělská fakulta Jihočeské university a¹ Společné laboratoře sdružení biologických
pracovišť AV ČR, 370 05 České Budějovice*

Vyřešení potíží spojených s přítomností polychlorovaných bifenyly v potravních řetězcích se odhaduje na desítky let. S určitým zpožděním proti PCB začaly způsobovat hygienikům i ekologům značné starosti příbuzné sloučeniny, ještě toxičtější polychlorované dibenzo-p-dioxiny (PCDD) a dibenzofurany (PCDF). To se v plné míře týká i československých podmínek.

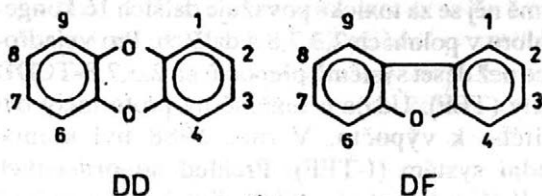
Souborné pohledy na tyto látky zpracovali u nás K o č a n (1987, 1990), K o č a n a G a r a j (1987) a B u c h t a, D o l e ž a l (1991). V současnosti dochází v nejvyspělejších zemích doslova k explozi poznatků o PCDD/PCDF, uskutečnila se řada specializovaných konferencí. Odtud je možné vybrat údaje, které objasňují pohyb těchto kontaminantů v potravních řetězcích.

Vlastnosti

PCDD a PCDF, triviálně souhrnně označované jako dioxiny, patří k nejtoxiktějším sloučeninám vytvářeným mimo živou přírodu. Vznikaly odedávna spalováním recentních i fosilních paliv. Samotné se však nikdy nevyráběly. Prostor pro velmi

Chemická struktura je zřejmá z obr. 1. Toxikologicky významné jsou až kongenery se čtyřmi a více atomy chloru v molekule. Přehled o počtu izomerů a kongenerů i o používaných zkratkách je patrný z tab. I. PCDD a PCDF se téměř vždy vyskytují současně. Dioxiny jsou velmi málo těkavé, ve vodě téměř nerozpustné látky - nejvýznamnější z nich mají rozpustnost řádově jen v setinách a desetínách mikrogramu

v litru. To jsou však z toxikologického hlediska už mimořádně vysoké koncentrace. Poměrně dobře se rozpouštějí v nepolárních organických rozpouštědlech a v tucích. Podobně jako PCB jsou vysoce termostabilní - pro tepelný rozklad se doporučují teploty alespoň 1050 °C po dobu dvou sekund.



intenzivní studium široké škály hledisek poskytl rozvoj analytiky, umožňující ve speciálních případech stanovit koncentrace řádově až pg/kg.

1050 °C po dobu dvou sekund. Fotolýza ultrafialovým zářením či slunečním světlem probíhá poměrně rychle, musí však být k dispozici donor vodíku, např. organická rozpouštědla či oleje.

I. Přehled PCDD/PCDF

Počet atomů chloru	Dibenzo-p-dioxiny (DD)		Dibenzofurany (DF)	
	zkratka	počet izomerů	zkratka	počet isomerů
4 tetra-	TCDD	22	TCDF	38
5 penta-	PeCDD	14	PeCDF	28
6 hexa-	HxCDD	10	HxCDF	16
7 hepta-	HpCDD	2	HpCDF	4
8 okta-	OCDD	1	OCDF	1
Počet kongenerů (včetně mono- až trisubstituovaných)		75		135

Smíšených kongenerů polychlorbromdibenzo-p-dioxinů (PCBDD) a -dibenzofuranů (PCBDF) je již 5020

Otrava PCDD/PCDF se projevuje komplexem symptomů: obtížně léčitelným kožním onemocněním, tzv. chlorakné, zvýšenou pigmentací kůže, hyperkeratózou, celkovou nevolností a depresí, poruchami smyslů, vylučovací soustavy, slinivky, metabolismu lipidů a sacharidů, narušením imunitního systému a krevní srážlivosti. Často uváděné karcinogenní a teratogenní účinky byly prokázány jen u řady pokusných zvířat, u člověka zatím ne. Toxikologicky nejzávažnější kongener 2,3,7,8-TCDD se řadí mezi potenciální karcinogeny a teratogeny. Výzkum toxicity musí brát v úvahu velmi rozdílnou citlivost jednotlivých druhů malých laboratorních zvířat. Živočiškové mají vůči PCDD/PCDF určitou detoxikační kapacitu, u krys především hydroxylací PCDF (K u r o k i et al., 1990).

Nejnebezpečnější látkou z obou skupin je 2,3,7,8-TCDD, který byl proto toxikologicky nejpodrobněji prozkoumán. Jeho LD₅₀ při orální aplikaci se pro řadu malých laboratorních zvířat pohybuje od jednotek do desítek mg na kg tělesné hmotnosti, avšak např. křeček je podstatně méně citlivý. To jsou hodnoty o několik řádů nižší než u mnoha běžných jedovatých látek. Kromě něj se za toxické považuje dalších 16 kongenerů, které jsou substituovány atomy chloru v polohách 2,3,7,8 a dalších. Pro vyjadřování jejich toxicity vzniklo postupně více než deset systémů přepočtů na 2,3,7,8-TCDD pomocí tzv. faktorů ekvivalentní toxicity (TEF). Údaje o toxicitě by proto měly být doplněny uvedením systému, použitého k výpočtu. V roce 1988 byl komisí NATO/CCMS vypracován mezinárodní systém (I-TEF). Přehled doporučených přepočtových hodnot je uveden v tab. II (K u t z et al., 1990). Systém je otevřený

a bude zpřesňován na základě dalších poznatků. Lze jej aplikovat i na směsi PCDD/PCDF, u nichž není známo zastoupení isomerů (B i r m i n g h a m, 1990).

V řadě západoevropských zemí a v Kanadě byly doporučeny bezpečné denní dávky (virtually safe dose - VSD) ekvivalentů 2,3,7,8-TCDD 1 až 10 pg na kg tělesné hmotnosti, přičemž jsou dioxiny chápány jako promotory karcinogeneze. V USA, kde jsou pojímány jako nebezpečnější iniciátory karcinogeneze, byly doporučeny VSD o dva až tři řády nižší.

II. Hodnoty relativní toxicity PCDD/PCDF v systému I-TEF (K u t z et al., 1990)

CDD-isomery	Hodnota toxicity	CDF-izomery	Hodnota toxicity
2,3,7,8-TCDD	1	2,3,7,8-TCDF	0,1
1,2,3,7,8-PeCDD	0,5	2,3,4,7,8-PeCDF	0,5
		1,2,3,7,8-PeCDF	0,05
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD		1,2,3,7,8,9-HxCDF,,	
1,2,3,6,7,8-HxCDD		1,2,3,6,7,8-HxCDF,,	
		2,3,4,6,7,8-HxCDF,,	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01
		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF,,	
OCDD	0,001	OCDF	0,001

Všechny ostatní CDD a CDF se pokládají za netoxické

Kvalitní rozsáhlý souborný referát k této problematice zpracoval S a f e (1990).

Zdroje

Za nejvýznamnější zdroje kontaminace prostředí PCDD/PCDF se považují:

- spalovací pochody, zejména provoz spaloven tuhých komunálních odpadů,
- výroba a použití chlorfenolů a herbicidů na jejich bázi, PCB a příbuzných látek,
- některé metalurgické procesy,
- chlorační bělení buničiny,
- provoz motorových vozidel.

Názory na množství vytvářených dioxinů, a tím i na podíl jednotlivých zdrojů se liší v různých zemích i v čase, jak přibývá poznatků.

Při spalovacích procesech se dostávají do ovzduší jak PCDD/PCDF obsažené již ve spalované hmotě, tak vznikající z příbuzných látek, ale i z chemicky dost odlišných materiálů obsahujících chlor - např. z PVC. Mechanismy vzniku z chlorovaných sloučenin uvádějí souhrnně R e e o v á et al. (1988). Zajímavé jsou poznatky o tepelných přeměnách PCB. Z těch vznikají při pyrolýze a za přítomnosti donorů

kyslíku PCDF, vznik PCDD se nepředpokládá. Optimální je teplota kolem 550 °C. Při teplotách 550 až 650 °C může být na PCDF přeměněno až 0,2-1,6 % PCB. Obavy jsou zejména z nekontrolovaného spalování náplní transformátorů a kondenzátorů, ale i laků a nátěrů. Tyto problémy se dají očekávat i při spalování dřeva ošetřeného před lety nátěry obsahujícími pentachlorfenol - Pentalidolem, Luxolem, Drevodekorem.

Kapacitně největší riziko představují spalovny tuhých komunálních odpadů, v menší míře spalovny průmyslové a nemocniční. Souhrnný pohled publikovali A l t w i c k e r et al. (1990), koncepční přístup zpracovala pracovní skupina Světové zdravotnické organizace (S u e s s, 1987). Závisí především na konstrukci a technologické kázni provozu spaloven. V nejhorších případech emitují až tisíce ng/m². Pro současně budované spalovny byl stanoven limit 0,1 ng ekvivalentů 2,3,7,8-TCDD na 1 m², pro starší provozy řada zemí připouští až 2,0 ng/m³. Rozhodující část dioxinů je adsorbována na ulétavém popílku. Nezachycený popílek plošně kontaminuje prostředí, popílek zachycený elektrofiltry se může roznášet větrem z nezajištěných složišť. Struska je kontaminována podstatně méně.

V řadě vyspělých zemí se pro snížení hořlavosti přidávají do některých umělých hmot, textilií a koberců polybromované bifenyly a difenylethery. Při spalování těchto materiálů vznikají smíšené chlorbromdioxiny, z jejichž toxicity jsou vážné obavy (S o v o c o o l et al., 1988).

Již před lety se posuzovaly jako zdroje PCDD/PCDF procesy spalování uhlí, ropných produktů a dřeva. Dnes se význam těchto zdrojů pokládá za omezený. Dokládají to mj. opakované nálezy velmi nízkých obsahů dioxinů v sedimentech jezer a rybníků z doby před rokem 1930, kdy začaly tyto kontaminanty vznikat při chemických výrobcích.

Významná množství dioxinů vznikají při výrobě chlorovaných aromatických sloučenin, a to zejména při nedodržení technologických parametrů. Jedná se hlavně o výrobu 2,4-dichlorfenolu, 2,4,5-trichlorfenolu a pentachlorfenolu, ale i PCB. První dva fenoly se vyrábějí jako meziprodukty herbicidů 2,4-D (kyselina 2,4-dichlorfenoxycetová) a 2,4,5-T (kyselina 2,4,5-trichlorfenoxycetová). Pentachlorfenol se používal jako ochrana proti hnilobě dřeva. Výroba chlorovaných fenolů byla v Československu ukončena v roce 1969, dovoz v letech 1985 až 1986. Herbicidní 2,4,5-T se nesmí používat a 2,4-D je dosud součástí jednoho povoleného herbicidu.

V širokém povědomí jsou dosud důsledky kontaminace prostředí související s těmito zdroji. Americká armáda použila v období 1962 až 1971 pro defoliaci džungle v Jižním Vietnamu sérii herbicidních prostředků, z nichž nejvýznamnější byl Agent Orange. Odhaduje se, že při těchto akcích bylo rozprášeno 167 kg 2,3,7,8-TCDD (M a s u d a, 1988). Druhým známým případem je havárie výroby 2,4,5-trichlorfenolu v italském Sevesu v roce 1976. Došlo k silné kontaminaci půdy, musely být utraceny desetitisíce kusů hospodářských zvířat. Dodnes se v krevním séru tehdy exponovaných obyvatel zjišťují vysoké hodnoty PCDD/PCDF.

Při některých metalurgických pochodech, např. při výrobě mědi z druhotných surovin, ale i v elektrických obloukových pecích, kdy je v surovině zejména PVC, mohou vznikat množství PCDD/PCDF srovnatelná s městskými spalovnami. Údajů je však zatím poměrně málo.

V posledních letech se jako nezanedbatelný lokální zdroj dioxinů zjistily odpady z chloračního bělení buničiny. Jedná se především o reakce ligninu, kontaminace závisí zejména na poměru chloru k ligninu (A x e g a a r d , R e n b e r g , 1988). Souhrnné zhodnocení a návrhy na technologická opatření uvádějí C h u n g et al. (1990). V USA a v Kanadě se zjistila velmi vysoká kontaminace ryb z toků znečištěných odpady z chloračního bělení buničiny. Z potravinářského i všeobecně hygienického hlediska je závažné zjištění PCDD/PCDF prakticky ve všech druzích spotřebitelského papíru při citlivosti 0,1 ng/kg (W i b e r g et al., 1988).

Výfukové plyny ze spalovacích motorů sice neobsahují tolik dioxinů jako emise ze starších spaloven, šíří však škodliviny plošně. To se týká zejména olovnatého benzínu, do nějž se přidávají organické halogenované sloučeniny jako vynašeče olova (B a l l s c h m i t e r et al., 1986; B a c h e r et al., 1991). Dalším rizikem jsou regenerované oleje, získané z druhotných surovin, do nichž byly při sběru nezodpovědně přimíchány použité oleje z transformátorů a oleje použité jako teplonosná média. Kromě PCDD/PCDF doprovázejících PCB vznikají další množství při tepelném namáhání olejů. Zajímavá by v tomto směru byla v našich podmínkách studie týkající se dvoutaktních motorů.

Ovzduší

Z předchozích údajů je zřejmé, že PCDD/PCDF mohou pronikat do potravních řetězců především nepřímo, a to ovzduším, v menší míře vodou. Dýcháním, popř. pokožkou, však člověk přijímá podle různých údajů jen velice nízký podíl z celkové expozice.

Informací o koncentracích PCDD/PCDF v ovzduší je značné množství. Hodnoty se pohybují od desetin do desítek, výjimečně až do stovek pg celkových dioxinů na 1 m³. To se zjistilo i v sousední SRN a Rakousku (C h r i s t m a n et al., 1988). Obecně platí, že v oblastech hodnocených jako ekologicky čisté se zjišťují úrovně asi pět až desetkrát nižší než v průmyslových regionech. Např. v Nizozemí se počítá s průměrným spadem 10 ng ekv. 2,3,7,8-TCDD na m² ročně, avšak v bezprostřední blízkosti spaloven jsou hodnoty několiknásobně vyšší (L i e m et al., 1991).

Základní údaje jsou již k dispozici i z Československa. Jako pozadí z ekologicky čistého prostředí Pelhřimovska se zjistily hodnoty nižší než mezinárodně doporučený přísný limit pro imise 0,02 pg/m³ (H o l o u b e k et al., 1990). Stanovení dioxinů v komínových emisích 18 spaloven a kotlen však potvrdilo obavy, že zahraniční limity jsou u nás často překračovány (K o č a n et al., 1991). Při spalování odpadu obsahujícího převážně polyester bylo v emisích 43 ng ekvivalentů 2,3,7,8-TCDD na 1 m³, při spalování hnědého uhlí v jedné z bytových kotlen 36,8 ng/m³. Toto zjištění je závažné z hlediska rozsahu spalování hnědého uhlí u nás a často špatného technického stavu kotlen.

Dálkovým přenosem aerosolů se mohou PCDD/PCDF šířit i na vzdálenosti v globálním měřítku. Svědčí o tom relativně značné hodnoty zjištěné v tkáních mořských savců. Vyšší hodnoty v Arktidě než v kanadských subarktických oblastech se přisuzují evropským a asijským zdrojům (N o r s t r o m et al., 1990).

Voda a ryby

Povrchové vody jsou znečišťovány spadem popílku, vodní erozí kontaminované půdy a lokálně z chloračního bělení buničiny. Podle kanadských údajů (H o , C l e m e n t, 1990) nebyly v žádné ze 37 kontrolovaných čistíren městských odpadních vod zjištěny TCDD, do kalů přecházely HpCDD a OCDD. Tento zdroj znečištění toků se proto nepovažuje za významný. Vzhledem k nízké rozpustnosti ve vodě a adsorpci na částicích se dioxiny kumulují v sedimentech. Toxicitu sedimentů lze testovat indukci některých enzymů např. kapra. Doporučuje se zejména sledování aktivity jaterní monooxygenasy ethoxyresorufin-O-deethylasy (EROD) jako parametr indukce cytochromu P 450 (v a n d e r W e i d e n et al., 1988).

V modelových pokusech (F r i e s e n et al., 1990) byl prokázán fotolytický rozklad dvou PCDD ve vodě slunečním zářením. Konstanty pseudomonomolekulární reakce činily 0,74 pro 1,2,3,4,7-PeCDD a 0,28 pro 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD na jeden den.

Ryby kumulují z vody jen několik kongenerů, avšak především 2,3,7,8-TCDD a další patřící k nejtoxičtějším. Proč je tomu tak, nelze zatím vysvětlit ani předpovědět. Biokoncentrační faktory ryba/voda se uvádějí 2000 až 26 000, za reálnou se považuje hodnota kolem 5000. Závisí na druhu ryby a kongeneru. Pro obsahy 2,3,7,8-TCDD ve sladkovodních rybách se uvádí široké rozpětí méně než jeden až stovky ng na kg (O p p e r h u i z e n , S i j m, 1990).

Půda, rostliny a hospodářská zvířata

Půda může být dioxiny kontaminována z použitých herbicidů, spadem ulétavého popílku, popílkem rozvátým z nezajištěných složišť, hnojením čistírenskými kaly, příp. i dálkovým přenosem aerosolů. Určitá množství dioxinů se mohou z popílků vymývat vodou (K a r a s e k et al., 1987). Vzhledem k pevné adsorpci na půdní částice a nízké rozpustnosti ve vodě se za běžných podmínek nepředpokládá průnik do vrstev hlubších než 15 cm, příp. do podzemních vod. Jiná situace však může nastat na špatně vedených skládkách.

V několika západoevropských zemích jsou doporučeny limity pro zemědělskou půdu 5 až 10 ng ekvivalentů 2,3,7,8-TCDD na 1 kg. Potvrdilo se, že půda v oblasti průmyslových měst je podstatně více kontaminována než v prostředí venkova (C r e a s e r et al., 1990). Při vzorkování je však třeba brát v úvahu, že ze svrchní vrstvy půdy se PCDD/PCDF odpařují a také se v ní fotolyticky rozkládají. Poločas rozkladu v půdě pro 2,3,7,8-TCDD se uvádí až 12 let. Ověřují se možnosti fotolytické dekontaminace půd (D o u g h e r t y et al., 1991). Zajímavou studii o posuzování rizik kontaminace kulturních rostlin, hospodářských zvířat a spodních vod dioxiny a řadou dalších organických látek z půdy hnojené čistírenskými kaly zpracovali W i l d a J o n e s (1992) na základě fyzikálně chemických vlastností kontaminantů.

Pro pícniny se v USA udává průměrná hodnota 76 pg 2,3,7,8-TCDD na kg, přičemž se počítá, že 26 % pochází ze spadu, 66 % z par uvolněných z půdy a zachycených rostlinou a jen 8 % je přijato kořeny (T r a v i s et al., 1990). Zajímavé je zjištění, které uveřejnili Ö b e r g et al. (1990), že *in vitro* mohou vznikat značná množství

PCDD/PCDF působením rostlinných a živočišných peroxidas (z křenu a z kravského mléka) z 2,4,5- a 2,4,6-trichlorfenolů.

U slepic se prokázal ve vejcích i ve svalovině obsah i zastoupení jednotlivých kongenerů velmi dobře odpovídající kontaminaci půdy, na níž se nosnice pohybovaly. Doporučuje se proto používat je pro biomonitorování. Podobné vztahy se zjistily i v mléce v závislosti na kontaminaci půdy v místě pastvy dojníc (Stephens et al., 1990).

Průnik dioxinů v řetězci půda - krmiva - mléko se potvrzuje údaji ze Švýcarska (Schmid, Schlatter, 1992) a zejména z Nizozemí (Liem et al., 1991). Mléko z průmyslových a urbanizovaných oblastí obsahuje průkazně více dioxinů, nejzávažnější je situace v bezprostředním okolí některých spaloven tuhých komunálních odpadů, odkud mléko již hygienicky nevyhovuje. Určité obavy z důsledků požití kontaminované půdy hrajícími si malými dětmi se nepotvrdily. Příjem v kanadských městech nepřesáhl 10 % z bezpečné denní dávky dioxinů.

Poločasy vylučování u přežvýkavců jsou asi 40 až 100 dní u skotu, 70 dní u koz a 50 dní u ovcí. U malých laboratorních zvířat činí jen tři až čtyři týdny. Absorbce PCDD/PCDF z trávicího traktu dojníc a jejich ukládání v tělním tuku klesá s rostoucím stupněm chlorace. Mlékem se vylučuje kolem 20 % přijatých ekvivalentů 2,3,7,8-TCDD (McLachlan et al., 1990). Při testování kinetiky osmi kongenerů (Olling et al., 1991) se však zjistily závažnější údaje. Koncentrace dioxinů v mléce dosáhla maxima již druhý den po jejich podání a podstatně poklesla během týdne. Poločas vylučování 2,3,7,8-TCDD byl pouze 0,8 dne a v těle byl zadržen jen minimální podíl. Pokračují však pokusy s dioxiny vázanými na popílek ze spaloven, u nichž se předpokládá nižší využitelnost.

Zvířata mohou přijímat kontaminanty nejen pící a půdou, ale také olizováním dřeva konzervovaného pentachlorofenolem, popř. při zkrmování rybí moučky.

Potraviny a člověk

Pro podmínky USA byl vypočten průměrný denní příjem PCDD/PCDF jednotlivce 1 41 pg. Zdrojem až 99 % je potrava, zbytek je z pitné vody a ze vzduchu (Travis et al., 1990). Pro SRN je vypočtený denní průměr 85 pg ekviv. 2,3,7,8-TCDD (Furset et al., 1990). Podobně jako v dalších zemích jsou hlavními zdroji sladkovodní i mořské ryby, maso, mléko a mléčné výrobky.

Ryby, jak již bylo uvedeno, jsou kontaminovány velmi různě, od desetin do stovek ng na kg. Podstatné množství se ukládá ve svalovině. Poslední údaje z britské obchodní sítě (Starrin et al., 1990) udávají průměr 0,74 ng ekvivalentů I-TEF na 1 kg. Podle stejné práce mléko z farem z ekologicky čistých oblastí obsahovalo v průměru 0,045 ng na kg s nevelkým kolísáním, zatímco z oblastí znečištěných 0,12 - 0,25 ng ekvivalentů I-TEF na kg. To je v souladu s předešlými pracemi.

V Nizozemí byla přijata nejvyšší přípustná koncentrace 6 ng ekviv. I-TEF na kg mléčného tuku.

Z papírového obalu přešlo do mléka po sedmi dnech uložení v chladničce jen asi 6 % z obsahu dioxinů v obalu. Tento zdroj kontaminace se tedy neprojevil jako významný

(Startin et al., 1990). Ryan et al. (1992) zjistili v závislosti na tučnosti mléka a době skladování v chladničce přechod 3 až 5 % ekvivalentů I-TEF. Rozhodující množství přejdou již v prvních dnech skladování, a to tím více, čím vyšší je obsah tuku. I tyto závěry jsou posuzovány příznivě, avšak vycházejí z velmi nízkých obsahů dioxinů v použitých obalech. Při větší kontaminaci papíru a při balení výrobků o vyšším obsahu tuku může být situace jiná.

Na příjmu PCDD/PCDF se rostlinná potrava podílí jen málo. Pro kontaminaci ovoce a zeleniny v USA se uvádí průměr 72 pg/kg, přičemž asi 22 % pochází ze spadu, 69 % z par uvolněných z půdy a 9 % je přijato kořeny (Travis et al., 1990). Zajímavé je zjištění, které uveřejnili Rappe et al. (1990), že při chloraci pitné vody vznikají desítky až stovky pg PCDF, zejména HxCDF, na kg, tedy toxikologicky méně významných kongenerů. Při kontrole vodárenských systémů státu New York se však zjistily jen dva TCDF v koncentraci 1 pg/kg (Meyer et al., 1988).

Z pokusů na opicích (Krowke et al., 1990) vyplynulo, že přenos dioxinů z matky na plod přes placentu je podstatně méně významný než mateřským mlékem. Rovněž na opicích se sledovalo rozložení subkutánně podaných PCDD/PCDF. Potvrdilo se, že se ukládají především v játrech a v tukových tkáních (Abraham et al., 1990). Proto se u člověka sleduje obsah v tělním tuku, mateřském mléce a krevním séru. V jaterním tuku ve srovnání s tukem tělním se kumulují zejména výsechlorované, tedy toxikologicky méně nebezpečné kongenery (Thomas et al., 1990).

Biokoncentrační faktor pro člověka, vyjádřený jako poměr koncentrace v lidském tuku a v přijímané potravě, je značný - pro 2,3,7,8-TCDD se uvádí hodnota kolem 200. Z ryb a z dalších potravin se zadrží téměř 90 % dioxinů. Poločas vylučování z lidského těla je pět až šest let (Poirer, Schlatte, 1986). Několikrát se prokázalo, že v důsledku kumulace se hladina v tělním tuku zvyšuje s věkem.

Pro tělesný tuk a mateřské mléko se z řady vyspělých zemí udávají hodnoty v jednotkách ng 2,3,7,8-TCDD na 1 kg, pro jih Vietnamu až několikrát více. Celkovou toxicitu však několikanásobně zvyšují další kongenery. Ve čtyřech spolkových zemích SRN se zjistil průměrný denní příjem PCDD/PCDF z mateřského mléka kolem 90 pg na kg tělesné hmotnosti kojence, což výrazně překračuje doporučené limity 1 až 10 pg na kg (Frommberger, 1990). Obdobná zjištění jsou i z Británie (Startin et al., 1988) a z Nizozemí (Kope, 1989).

Analytika

Na rozdíl od analýzy jiných organických chlorovaných látek, vyskytujících se v životním prostředí, vyžaduje stanovení PCDD/PCDF značné zkušenosti a velmi náročné instrumentální vybavení, nehledě na práci s toxickým materiálem.

Nepatrné koncentrace dioxinů v prostředí a v potravních řetězcích si vynucují pečlivé a náročné izolační a čistící postupy. Potřeba identifikovat jednotlivé kongenery a izomery vyžaduje vesměs použití kapilární plynové chromatografie s hmotnostní detekcí, realizované spojením plynového chromatografu s jednoduchým hmotnostním detektorem nebo hmotnostním spektrometrem. V jednodušších případech je rovněž možné použít detektoru elektronového záhytu, identifikace je pak ale omezena jen na

srovnání retenčních dat naměřených látek se standardy. Pro dělení kongenerů a zejména nejzávažnějšího 2,3,7,8-TCDD se používá křemenných kapilárních kolon s kyano-silikonovou polární stacionární fází např. firmy Supelco, nebo kolon s kombinovanou stacionární fází, dodávaných firmou J+W.

Dioxiny se izolují ze vzorku extrakcí, které v některých případech předchází saponifikace. Používá se běžných rozpouštědel, např. hexanu, benzenu, toluenu, dichlormethanu, cyklohexanu aj. V tomto stupni se již přidává známé množství standardu, většinou značeného izotopem ^{13}C , pro snadnou kvantitativní analýzu pomocí hmotnostní spektrometrie. Další postupy se v různých případech velice liší, ale všechny využívají adsorpční kapalinové chromatografie na silikagelu buď samotném, nebo preparovaném koncentrovanou H_2SO_4 , NaOH , AgNO_3 , či na oxidu hlinitém, a to opět buď čistém, nebo preparovaném. Dalšími adsorbenty mohou být Florisil, Celit 545, aktivní uhlí aj.

Pro identifikaci a přesné stanovení se používá nízkorozlišující nebo vysocorozlišující hmotnostní spektrometrie, při které se sleduje jedna nebo několik skupin iontů. Při použití těchto technik se pracuje v koncentračním rozmezí 0,1-1 ng/kg (ppt). V poslední době se začala používat hmotnostní spektrometrie s negativní chemickou ionizací a sledované koncentrační rozmezí se snížilo o jeden až dva řády.

Další informace o analytice uvádějí Buchta a Doležal (1991) a jsou i v zásadách přijatých britskými pracovišti (Ambridge et al., 1990).

Literatura

- ABRAHAM, K. - WIESMÜLLER, T. - HAGENMAIER, H. - NEUBERT, D.: Distribution of PCDDs and PCDFs in various tissues of marmoset monkeys. *Chemosphere*, 20, 1990 : 1071-1078.
- ALTWICKER, E. R. - SCHONBERG, J. S. - KONDURI, R. K. N. - MILLIGAN, M. S.: Polychlorinated dioxin/furan formation in incinerators. *Hazard. Waste Hazard. Mater.*, 7, 1990 : 73-87.
- AMBIDGE, P. F. - COX, E. A. - CREASER, C. S. - GREENBERG, M. - GEM, M. G. M. - GILBERT, J. - JONES, P. W. - KIBBLEWHITE, M. G. - LEVEY, J. - LISSETER, S. G. - MEREDITH, T. J. - SMITH, L. - SMITH, P. - STARTIN, J. R. - STENHOUSE, I. - WHITWORTH, M.: Acceptable criteria for analytical data on polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans. *Chemosphere*, 21, 1990 : 999-1006.
- AXEGAARD, P. - RENBERG, L.: The influence of bleaching chemicals and lignin content on the formation of polychlorinated dioxins and dibenzofurans. *Chemosphere*, 19, 1988 (Publ. 1989) : 661-668.
- BACHER, R. - RIEHLE, U. - SWEREV, M. - BALLSCHMITER, K.: Patterns and levels of polyhalogenated (Br-, Cl-) dibenzodioxins and dibenzofurans in automobile traffic related samples. *Chemosphere*, 23, 1991 : 1151 - 1171.
- BALLSCHMITER, K. - BUCHERT, H. - NIEMCZYK, R. - MUNDER, A. - SWEREV, M.: Automobile exhausts versus municipal -waste incineration as sources of the polychloro-dibenzodioxins (PCDD) and -furans (PCDF) found in the environment. *Chemosphere*, 15, 1986 : 901-915.

- BIRMINGHAM, B.: Application of the International Toxicity Equivalency Factor scheme to PCDD/PCDF mixtures lacking isomer specific information. *Chemosphere*, 20, 1990 : 815-820.
- BUCHTA, A. - DOLEŽAL, B.: Problematika polychlorovaných dibenzo-p-dioxinů a dibenzofuranů. *Chem. Listy*, 85, 1991 : 158-170.
- CREASER, C. S. - FERNANDES, A. R. - HARRAD, S. J. - COX, E. A.: Levels and sources of PCDDs and PCDFs in urban British soils. *Chemosphere*, 21, 1990 : 931-938.
- DOUGHERTY, E. J. - McPETERS, A. L. - OVERCASH, M. R.: Kinetics of photodegradation of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: theoretical maximum rate of soil decontamination. *Chemosphere*, 23, 1991 : 589-600.
- FRIESEN, K. J. - MUIR, D. C. G. - WEBSTER, G. R. B.: Evidence of sensitized photolysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins in natural waters under sunlight conditions. *Environ. Sci. Technol.*, 24, 1990 : 1739-1744.
- FROMMBERGER, R.: Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans in cumulative samples of human milk from Baden-Württemberg, FRG. *Chemosphere*, 20, 1990 : 333-342.
- FUERST, P. - FUERST, Ch. - GROEBEL, W.: Levels of PCDDs and PCDFs in foodstuffs from the Federal Republic of Germany. *Chemosphere*, 20, 1990 : 787-792.
- HO, A. K. W. - CLEMENT, R. E.: Chlorinated dioxins/furans in sewage and sludge of municipal water pollution control plants. *Chemosphere*, 20, 1990 : 1549-1552.
- HOLOUBEK, I. - KOČAN, A. - PETŘÍK, J. - HOLOUBKOVÁ, I. - KOŘÍNEK, P. - BEZIČANSKÝ, M.: Polychlorované bifenily, dibenzo-p-dioxiny a dibenzofurany ve volném ovzduší v Československu. *Ochrana ovzduší*, 4, 1990 : 141-145.
- CHRISTMAN, W. - KLÖPPEL, K. D. - PARTSCH, H. - ROTARD, W.: Determination of PCDD/PCDF in ambient air. *Chemosphere*, 19, 1988 (Publ. 1989) : 521-526.
- CHUNG, A. - HALLIBURTON, D. - DONKELAAR, A. van: Measures to control chlorinated dioxin and furan formation and releases at Canadian bleached chemical pulp mills. *Chemosphere*, 20, 1990 : 1739-1746.
- KARASEK, F. W. - CHARBONNEAU, G. M. - REUEL, G. J. - TONG, H. Y.: Determination of organic compounds leached from municipal incinerator fly ash by water at different pH levels. *Anal. Chem.*, 59, 1987 : 1027-1031.
- KOČAN, A.: Polychlorované dibenzo-p-dioxiny a dibenzofurany - ďalšie kontaminanty životného prostredia. *Čs. Hyg.*, 32, 1987 : 236-253.
- KOČAN, A.: Zdroje a osud PCDD a PCDF v prostredí. In: HOLOUBEK, I. - HOLOUBKOVÁ, I. (Eds.): Sbor. Osud organických polutantů v prostředí, TOCOEN 90, UJEP, Brno 1990 : 38-58.
- KOČAN, A. - GARAJ, J.: Dioxiny - fáma a skutočnosť. *Chem. Listy*, 81, 1987 : 983-1000.
- KOČAN, A. - PETŘÍK, J. - CHOVANCOVÁ, J. - NEUBAUEROVÁ, L. - BEZIČANSKÝ, M.: PCDD, PCDF and PCB levels in stack emissions from Czecho-Slovak waste burning facilities. *Chemosphere*, 23, 1991 : 1473-1480.
- KOPPE, J. G.: Dioxins and furans in the mother and possible effects on the fetus and newborn breast-fed baby. *Acta Paediatr. Scand., Suppl.*, 360, 1989 : 146-153.
- KROWKE, R. - ABRAHAM, K. - WIESMÜLLER, T. - HAGENMAIER, H. - NEUBERT, D.: Transfer of various PCDDs and PCDFs via placenta and mothers milk to marmoset offspring. *Chemosphere*, 20, 1990 : 1065-1070.

- KUROKI, H. - HARAGUCHI, K. - MASUDA, Y.: Metabolism of polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) in rats. *Chemosphere*, 20, 1990 : 1059-1064.
- KUTZ, F. W. - BARNES, D. G. - BRETTTHAUER, E. W. - BOTTIMORE, D. P. - GREIM, H.: The international toxicity equivalency factor (I-TEF) method for estimating risks associated with exposures to complex mixtures of dioxins and related compounds. *Toxic. Environ. Chem.*, 26, 1990 : 99-109.
- LIEM, A. K. D. - HOOGERBRUGGE, R. - KOOTSTRA, P. R. - VELDE, L. G. van der - de JONG, A. P. J. M.: Occurrence of dioxins in cow's milk in the vicinity of municipal waste incinerators and a metal reclamation plant in the Netherlands. *Chemosphere*, 23, 1991 : 1675-1684.
- MASUDA, Y.: Environmental pollution of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans. *Eisei Kagaku*, 34, 1988 : 197-209.
- McLACHLAN, M. S. - THOMA, M. - REISSINGER, M. - HUTZINGER, O.: PCDD/F in an agricultural food chain. Part 1: PCDD/F mass balance of a lactating cow. *Chemosphere*, 20, 1990 : 1013-1020.
- MEYER, C. - O'KEEFE, P. - HILKER, D. - RAFFERTY, L. - WILSON, L. - CONNOR, S. - ALDONS, K. - MARKUSSEN, K. - SLADE, K.: A survey of twenty community water systems in New York State for PCDDs and PCDFs. *Chemosphere*, 19, 1988 (Publ. 1989) : 21-26.
- NORSTROM, R. J. - SIMON, M. - MUIR, D. C. G.: Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in marine mammals in the Canadian north. *Environ. Pollut.*, 66, 1990 : 1-19.
- OLLING, M. - DERKS, H. J. G. M. - BERENDE, P. L. M. - LIEM, A. K. D. - de JONG, A. P. J. M.: Toxokinetics of eight ¹³C-labelled polychlorinated dibenzo-p-dioxins and -furans in lactating cows. *Chemosphere*, 23, 1991 : 1377-1385.
- OPPERHUIZEN, A. - SIJM, D. T. H. M.: Bioaccumulation and biotransformation of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in fish. *Environ. Toxicol. Chem.*, 9, 1990 : 175-186.
- ÖBERG, L. G. - GLAS, B. - SWANSON, S. E. - RAPPE, C. - PAUL, K. G.: Peroxidase-catalyzed oxidation of chlorophenols to polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 19, 1990 : 930-938.
- POIGER, H. - SCHLATTER, C.: Pharmacokinetics of 2,3,7,8-TCDD in man. *Chemosphere*, 15, 1986 : 1489-1494.
- RAPPE, Ch. - SWANSON, S. E. - GLAS, B. - KRINGSTAD, K. P. - de SOUSA, P. - ABE, Z.: Formation of PCDDs and PCDFs by the chlorination of water. *Chemosphere*, 19, 1989 : 1875-1880.
- REE, K. C. M. - EVERS, E. H. G. - BERG, M. van den: Mechanisms of formation of polychlorinated dibenzo(p)dioxins (PCDDs) from potential industrial sources. *Toxic. Environ. Chem.*, 17, 1988 : 171-195.
- RYAN, J. J. - SHIEWCHUK, C. - LAU, B. P.-Y. - SUN, W. F.: Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans in Canadian bleached paperboard milk containers (1988-1989) and their transfer to fluid milk. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1992 : 919-923.
- SAFE, S.: Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs). *Crit. Rev. Toxicol.*, 21, 1990 : 51-88.

SCHMID, P. - SCHLATTER, Ch.: Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) in cow's milk from Switzerland. *Chemosphere*, 254, 1992 : 1013-1030.

SOVOCOL, G. W. - MITCHUM, R. K. - TONDEUR, Y. - MUNSLOW, W. D. - VONNAHME, T. L. - DONNELLY, J. R.: Bromo- and bromochloro-polynuclear aromatic hydrocarbons, dioxins and dibenzofurans in municipal incinerator fly ash. *Biomed. Environ. Mass Spectrometry*, 15, 1988 : 669-676.

STARTIN, J. R. - ROSE, M. - OFFEN, C.: Analysis of PCDDs and PCDFs in human milk from the UK. *Chemosphere*, 19, 1988 (Publ. 1989) : 985-988.

STARTIN, J. R. - ROSE, M. - WRIGHT, C. - PARKER, I. - GILBERT, J.: Surveillance of British foods for PCDDs and PCDFs. *Chemosphere*, 20, 1990 : 793-798.

STEPHENS, R. D. - HARNLY, M. - HAYWARD, D. G. - CHANG, R. R. - FLATTERY, J. - PETREAS, M. X. - GOLDMAN, L.: Bioaccumulation of dioxins in food animals II: controlled exposure studies. *Chemosphere*, 20, 1990 : 1091-1096.

SUESS, M. J.: PCDD and PCDF emissions and possible health effects: report on a WHO working group. *Waste Managm. Res.*, 5, 1987 : 257-268.

THOMA, H. - MÜCKE, W. - KAUERT, G.: Comparison of the polychlorinated dibenzo-p-dioxin and dibenzofuran in human tissue and human liver. *Chemosphere*, 20, 1990 : 433-442.

TRAVIS, C. C. - HATTEMER-FREY, H. A.: Dioxin: research needs for risk assessment. *Chemosphere*, 20, 1990 : 729-742.

WEIDEN, M. E. J. van der - CRAANE, L. H. J. - EVERS, E. H. G., KOOKE, R. M. M. - OLIE, K. - SEINEN, W. - BERG, M. van den: Bioavailability of PCDDs and PCDFs from bottom sediments and some associated biological effects in the carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere*, 19, 1988 (Publ. 1989) : 1009-1016.

WIBERG, K. - LUNDSTROEM, K. - GLAS, B. - RAPPE, C.: PCDDs and PCDFs in consumers' paper products. *Chemosphere*, 19, 1988 (Publ. 1989) : 735-740.

WILD, S. R. - JONES, K. C.: Organic chemicals entering agricultural soils in sewage sludges: screening for their potential to transfer to crop plants and livestock. *Sci. Total Environ.*, 119, 1992 : 85-119.

*P. Kalač, J. Tríska (Faculty of Agriculture, University of South Bohemia
and Laboratory of Analytical Chemistry, Academy of Sciences of Czech Republic,
České Budějovice, Czech Republic)*

A review of food chains contamination with polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans

In this review article, information on the chemical properties, biological effects and sources of dioxins is given. Pathways of contamination of the air, water and fish, soils, crops and farm animals resulting in the occurrence of dioxins in foods, human body fat, serum and milk are briefly summarized. The analytical principles of dioxins determination are also described.

OBSAH – CONTENTS

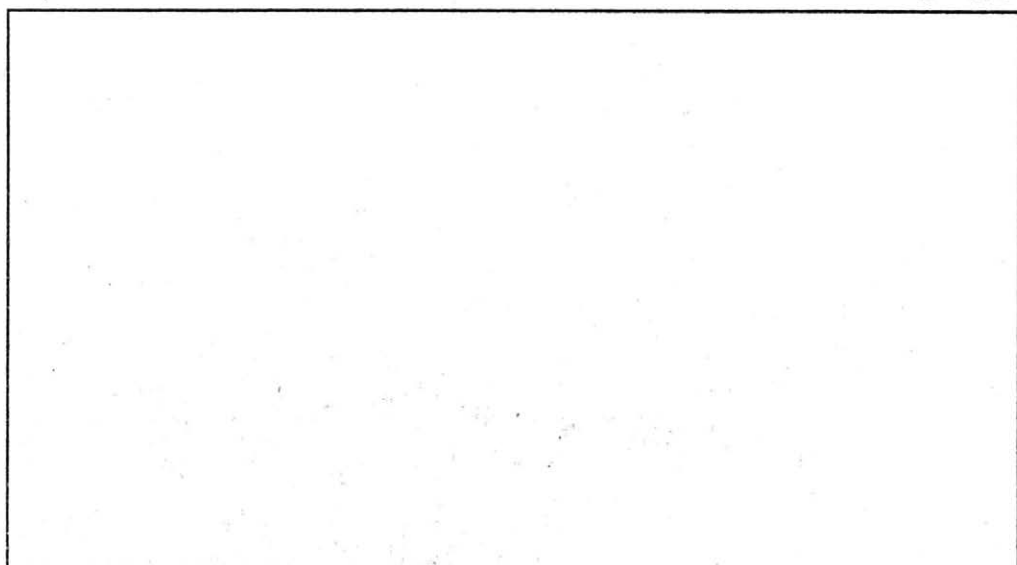
Zeman [†] I., Schwarz W., Brát J., Zajíc J.: Chromatographic analyses of the products from fatty acid dimerization – Chromatografické analýzy produktů z polymerace mastných kyselin	1
Urbanová E., Vyháňková J., Malíková M.: Závislost počtu mezofilních a psychrotrofních bakterií u vzorků z prvovýroby mléka – Relationship between the counts of mesophilic and psychrotrophic bacteria in samples from the milk primary production	13
Havlová J., Erban V., Jičínská E.: Kontaminace a kolonizace mlékárenských provozů osmotolerantními mikroorganismy – Osmotolerant microbes: contamination and colonization of dairy plants	21
Šubrtová D., Hejtmánková A., Vaňková Z., Hubáček J.: Změny obsahu těkavých látek, solaninu a škrobu v důsledku infikace mokrou hnilobou – Changes in the contents of volatile substances solanine and starch caused by soft rot infection	31
Takáčsová M., Šorman L., Dudášová S., Rajniaková A., Hozová B.: Zmeny v zastúpení mastných kyselín lipidov vzoriek, konzervovaných kombináciou termosterilizácie a ionizujúceho žiarenia – Changes in the proportion of fatty acids of lipid samples preserved by the combination of the sterilization and of ionizing radiation	43
Dodok L., Abid Ali M., Buchtová V., Halášová G., Poláček I.: Zloženie aminokyselín a mastných kyselín celozrnej múky z cícero – Composition of amino acids of the whole grain flour from chickpeas	51
Hozová B., Černá J., Žáková L.: Využitie symbiózy propiónových baktérií s kvasinkami pri fortifikácii kyslej kapusty B vitamínmi – Utilization of propionic bacteria in symbiosis with yeasts for sauerkraut fortification with B vitamins	55

PŘEHLEDY – SURVEYS

Kalač P., Tříška J.: Možnosti průniku polychlorovaných dibenzo-p-dioxinů a dibenzofuranů do potravních řetězců – A review of food chains contamination with polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans	69
---	----

RECENZE

Davídek J.: J. Dziuba, H. Kostyra – Biochemia żywności, ćwiczenia i metody	42
Dostálová J.: M. L. Brown (Ed.) – Present knowledge in nutrition	50



Vědecký časopis POTRAVINÁŘSKÉ VĚDY ♦ Vydává Česká akademie zemědělských věd a Slovenská akadémia pôdohospodárskych vied – Ústav zemědělských a potravinářských informací ♦ Vychází šestkrát ročně ♦ Redaktorka RNDr. Marcela Braunová ♦ Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 02/25 10 98 ♦ Sazba a tisk ÚZPI Praha ♦ © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1993.

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, doručovatel tisku a Administrace centralizovaného tisku, Kašková 19, 160 00 Praha 6