

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

POTRAVINÁŘSKÉ VĚDY

FOOD SCIENCES

2

ROČ. ÍK 11
PRAHA 1993
CS ISSN 0332-0568

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD
SLOVENSKÁ AKADEMIA PÔDOHOSPODÁRKYCH VIED

POTRAVINÁŘSKÉ VĚDY

FOOD SCIENCES

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., prof. 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

Contact address: Slezská 7, 120 56 Prague 2, Czech Republic, tel. 251 098

Potr. Vědy, 11, 1993 (2) : 81-160

RELATIONS BETWEEN SENSORY ATTRIBUTES OF FLAT CRISP BREAD

František STREJČEK, Jan POKORNÝ* , Martina VIERECKLOVÁ,
Daniel POKORNÝ, Jiří HOLAS

*Institute of Chemical Technology, Technická 5, CS-166 28 Praha 6;
Food Research Institute, Radiová 7, CS-102 31 Praha 10;
SEDBA, a. s., Jankovcova 18, CS-170 37 Praha 7, Czech Republic*

Relations between 17 sensory attributes were studied in the set of 122 samples of crisp bread produced by extrusion cooking. Great majority of relations were statistically significant but only in some cases correlation coefficients were above than 0.8. Linear regressions prevailed but quadratic or cubic relations were preferable in some cases while exponential or hyperbolic relations were less satisfactory. Relations between textural attributes and intensities of sounds accompanying the operations were found less significant. Relations between different textural attributes and the overall textural quality also possessed lower degrees of significance, however, the correlations between the flavour or the freshness and the overall texture quality had very high correlation coefficients. The moisture content in the samples had no substantial influence on the character of relations. The application of non-parametric methods of statistical analysis did not give results substantially different from those obtained with the use of parametric statistical methods.

flat crisp bread; texture; sensory analysis; regression between the sensory attributes

The texture is a complex of very important food attributes which is often more important than the flavour (Muňoz, Civile, 1987), but its influence on the overall food acceptability may depend very much on consumer habits and traditions of particular ethnic groups. Therefore, it is not possible to use results of other (especially foreign) laboratories without own experimental evidence. The

* to whom the correspondence should be addressed

texture acceptability has also a great effect on the flavour acceptability during the degustation (I z u t s u, W a n i, 1985).

Contrary to taste or odour sensations the assessor does not form any complex sensation in case of the texture but each attribute is perceived separately. For this reason the determination of the texture profile is of particular importance. A typical texture profile was proposed by E a r l e (1979) for the meat evaluation. She recommended to assess four descriptors at the first biting, four other descriptors during the chewing, and the least four descriptors at the end of chewing. Her work was based on older studies (B r a n d t et al., 1963). The principle of our texture profile was based on their procedures. If the texture is being assessed without respect to the procedure at the actual consumption, as it is proposed by some authors (D r a i n s f i e l d et al., 1984), the results have no such complex validity. Contrary to texture profiles obtained with the use of instrumental methods, sensations during the chewing are perceived at degustation (D r a k e, 1968) when saliva is gradually mixed with the morsel. This effect is not simply evaluated with the use of any apparatus. The determination of rheological properties of the original material by an instrument does not give an accurate information on gradual changes during the comminuting, mixing of the morsel with saliva, and slow heating to the temperature inside the oral cavity.

Bread is one of typical food products where the texture has particularly great importance, and therefore, the determination of the respective sensory texture profile was developed in detail, and checked with instrumental procedures (S t o l m a n, L u n d g r e n, 1987). The latter authors developed procedures with eight or five descriptors for the separate assessment of bread crumb and bread crust, respectively. Because of imperfect homogeneity of the sample, it was recommended to repeat the sensory assessment several times with the same sample in order to obtain approximately average results (T s u j i, 1978).

In our earlier paper (P o k o r n ý et al., 1990) we discussed our method for the assessment of sensory texture profile of crisp bread, and we have studied relations between textural characteristics of crisp bread and its mechanical properties (P o k o r n ý et al., 1991). This study concerns regression between results of individual attributes of the sensory profile.

MATERIAL and METHODS

Material — Samples of crisp flat bread were produced from a mixture of wheat and rye flours with wheat bran with use of a double-screw extruder Continua 58 (Werner & Pfleiderer, Stuttgart, Germany). The technological procedure was published earlier in another place (H o l a s, P o s k o č i l o v á, 1986;

P o k o r n ý et al., 1987). Samples slightly differed in their formulae, in details of the technological procedure, in the storage time, and in the water content. The effect of these factors on mechanical properties of crisp bread was discussed in our previous paper (P o k o r n ý et al., 1991).

Methods of the Sensory Analysis — The testing room well-corresponded to the requirements of the international standard (I S O, 1988) for the sensory laboratory. The testing panel was trained according to the standard procedure (I S O, 1990), and the assessors had a six-months experience at least. The assessors were instructed, both orally and writing, about the aim of the sensory analysis, and about the completing the test form, and were trained in four sessions.

The sensory profile for the texture evaluation of crisp bread consisted of 17 descriptors (P o k o r n ý et al., 1990) which were assessed by either nine-point category ordinal scales or unstructured graphical scales (145 mm long oriented lines) - Table I.

I. Symbols of the respective sensory attributes

Symbol	Sensory attribute	Scale A
A	difficulty to break the slice in the hands	k
B	intensity of sounds accompanying breaking of the slice	g
C	resistance against crushing the slice between the fingers of one hand	k
D	pressure necessary to crush the slice between the fingers	g
E	intensity of sounds accompanying the crushing	g
F	difficulty of biting a morsel off from the slice	k
G	intensity of sounds accompanying the biting	g
H	difficulty of chewing the morsel	k
J	force needed for the chewing	g
K	resistance against disintegration of the morsel	g
L	intensity of sounds accompanying the chewing	g
M	difficulty in absorbing the saliva during chewing	k
N	difficulty of swallowing the morsel	k
P	complex defects of flavour quality	g
Q	defects in the freshness of the samples	g
R	complex evaluation of texture quality defects	g
S	quality defects of textural quality	k

The grading scale used: k = nine-point category ordinal scales, g = unstructured graphical scales 0 - 145 mm long

For each analysis, two pieces of crisp flat bread were served on a white porcelain plate provided with a four-digit numerical code. Two to three samples served in randomized blocks at a session.

Method of the Regression Analysis — To examine and describe all possible relations between sensory attributes, it was necessary to calculate regression functions for all combinations of attributes in such a way that every attribute was used once as an independent variable and once as a dependent variable, i. e. the total of 272 pairs of sensory attributes were generated. The following regression functions were generated. The following regression functions were used for the description of relationship:

- 1° linear [(10), $n = 1$],
- 2° quadratic [(1), $n = 2$],
- 3° cubic [(1), $n = 3$]
- 4° hyperbolic [linearized, (2)], and
- 5° exponential [linearized, (3)].

The linearizations were used for the purpose of calculations:

$$Y = a_0 + \sum_{i=0}^n a_i X^i \quad [1]$$

$$Y = a_0 + a_1 * T \quad (T = \frac{1}{X}) \quad [2]$$

$$\ln(Y) = \ln(a_0) + X * \ln(a_1) \quad [3]$$

The regression coefficients a_i of the respective functions were calculated (estimated) by the method of the least squares (O l e h l a et al., 1982).

Some other statistical tests and criteria were used to describe the quality in the assessment of regressions calculated. The coefficient of determinance r^2_{yx} was calculated from the polynomial:

$$r^2_{zy} = \left\{ \sum_{i=1}^n (y_{vi} - \bar{y})^2 \right\} * \left\{ \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 \right\}^{-1} \quad [4]$$

The coefficient of determinancy multiplied by 100 indicates the degree (in p. c.) in which the respective regression function explains the variance observed, and vice versa, the percentage of the influence of other factors which were not included or were neglected in the respective solution. Eventual low value of the coefficient of determinancy does not necessarily signify a low intensity of the relation between y and x , but it may only mean that the respective regression function is not suitable for the description of the respective relation.

The correlation coefficient was calculated for the regressions (1, $n = 2$ and 3), [2] and [3] after:

$$r_{xy} = |\sqrt{r^2_{xy}}| \quad [5]$$

and for the linear regression (1, $n = 1$) after:

$$r_{xy} = \left[\frac{n \sum_{i=1}^n X_i Y_i - \sum_{i=1}^n X_i \sum_{i=1}^n Y_i}{\left[n \sum_{i=1}^n X_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n X_i \right)^2 \right] \left[n \sum_{i=1}^n Y_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n Y_i \right)^2 \right]} \right]^{\frac{1}{2}} \quad [6]$$

The applicability of respective calculated regression coefficients a_i in the regression function was examined with the use of the t -test which have the t -distribution with $(n - m_j)$ degrees of freedom. The following values were calculated with use of the regression coefficients a_i : variance of the measurement, variances of individual regression coefficients, variation of calculated values of the dependent variable y_v , and the interval of reliability for the respective regression coefficients a_i and the respective calculated values y_v .

The above t -test makes it possible to assess individual influences of tested variants of the independent variable (i. e. its value directly or its second, third power, reciprocal value or its application in an exponential relationship as an exponent) on the dependent variable. The overall influence of all variants of the independent variable used can be determined by the F -test. The value of the F -test is calculated as follows:

$$F_{n, n-m_j} = (n - m_j) * \left\{ \sum_{i=1}^n (y_{vi} - \bar{y})^2 \right\} * \left\{ \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 \right\}^{-1} \quad [7]$$

This test enables to decide whether the respective independent variable significantly influences the value of y_v in all variants used. In the actual calculation we try to find such a solution which gives statistically significant values of the F -test and all t -tests. However, such a result can give more than one regression function in the case of one pair x and y . To test the statistically significant differences of different solutions obtained in this way, it is possible to compare the variations of individual solutions with one another (using of the F -test).

If several solutions are mutually compared with, the assumption of constant variances of random components should be fulfilled in all regression functions compared. The congruency of the great number of variances was tested with the use of the Bartlett's homogeneity test (Olehl et al., 1982). The test criterion was the quantity of χ^2 :

$$\chi_0^2 = 2.3026 - \left\{ \sum_{j=1}^k v_j * \log \left[\sum_{j=1}^k (v_j s_j^2) \right] - \sum_{j=1}^k [v_j \log (s_j^2)] \right\} \quad [8]$$

which was compared with the critical value of $\chi_{\alpha,1}^2$ at the number of degrees of freedom = 1 (i. e. the number of functions compared minus one).

RESULTS

Sensory analysis — Results of the sensory analysis were obtained by using the above procedure (profile evaluation of 17 descriptors) for the set of all 122 samples. The complete matrix of 122 x 17 values is not given in this paper but it is available at the first author.

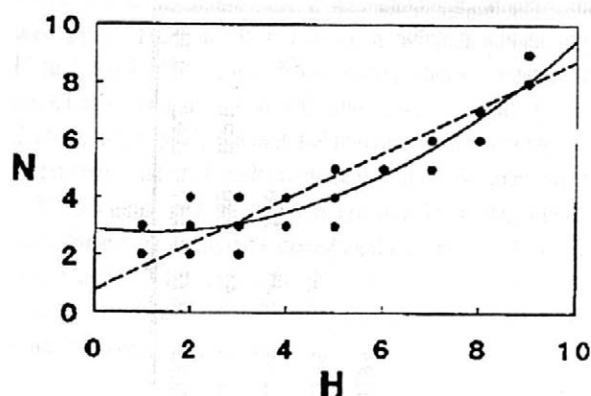
Correlation and Regression Analysis — Results of the regression analysis are summarized in Tables II to IV.

Linear, quadratic and cubic regressions described the experimental data significantly better (for $|r_{yx}| \geq 0.8$; $\alpha = 0.05$) in all cases of pairs of sensory attributes than hyperbolic or exponential regressions.

In some cases the linear, quadratic and cubic regressions gave all statistical tests as significant (F -test of the overall regression, and t -tests of individual regression coefficients) but the regressions could not be differentiated from one another with use of the F -test for the comparison of variances. In such cases the regressions with smaller number of coefficients (i. e. the polynomials of a lower order) were used for further considerations.

II. Values of correlation coefficients for pairs of sensory attributes

	A	B	C	D	E	F	G	H	J	K	L	M	N	P	Q	R
B	-0.18															
C	0.82	-0.25														
D	0.60	0.43	0.63													
E	-0.26	0.67	-0.63	0.09												
F	0.82	-0.25	0.93	0.62	-0.51											
G	-0.37	0.87	-0.46	0.20	0.81	-0.45										
H	0.78	-0.19	0.90	0.63	-0.48	0.93	-0.42									
J	0.58	0.27	0.66	0.84	-0.05	0.69	0.08	0.75								
K	0.61	0.15	0.74	0.79	-0.23	0.78	-0.08	0.83	0.89							
L	-0.38	0.72	-0.50	0.08	0.80	-0.51	0.78	-0.45	-0.03	-0.18						
M	0.71	-0.25	0.84	0.50	-0.54	0.88	-0.47	0.89	0.61	0.76	-0.51					
N	0.69	-0.37	0.76	0.39	-0.59	0.80	-0.54	0.86	0.55	0.66	-0.54	0.86				
P	0.12	0.23	0.14	0.20	-0.03	0.23	0.13	0.35	0.19	0.39	-0.02	0.33	0.36			
Q	0.23	0.28	0.35	0.45	-0.06	0.41	0.58	-0.02	0.44	0.58	-0.02	0.44	0.43	0.86		
R	0.28	0.20	0.39	0.43	-0.14	0.46	0.04	0.56	0.56	0.60	-0.07	0.50	0.51	0.89	0.91	
S	0.48	-0.23	0.66	0.34	-0.52	0.72	-0.34	0.76	0.48	0.61	-0.42	0.75	0.77	0.57	0.62	0.71



1. Relation between the difficulty of swallowing of the morsel (N) and the difficulty of chewing of the morsel (H)

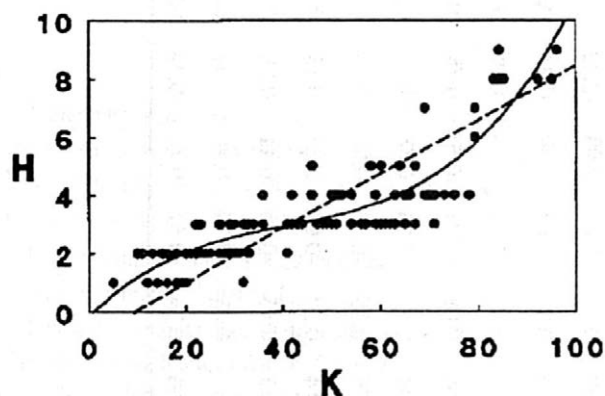
— quadratic function $N = f(H)$

$$N = 2.09 - 0.195H + 0.0854 H^2$$

- - - linear function $H = f(N)$

$$H = -0.964 + 1.25N$$

In three pairs of sensory attributes, namely $H-N$, $K-H$, and $F-N$, for: $|r_{yx}| \geq 0.8$ both statistically significant quadratic and cubic correlations were found, but the interchange of the dependent and the independent variables, and vice versa, lead to the equally statistically significant linear regressions.



2. Relation between the difficulty of chewing (H) and the resistance of the morsel to disintegrate during the chewing

— cubic function $H = f(K)$

$$H = -0.153 + 0.165K - 0.00313K^2 + 0.0000275K^3$$

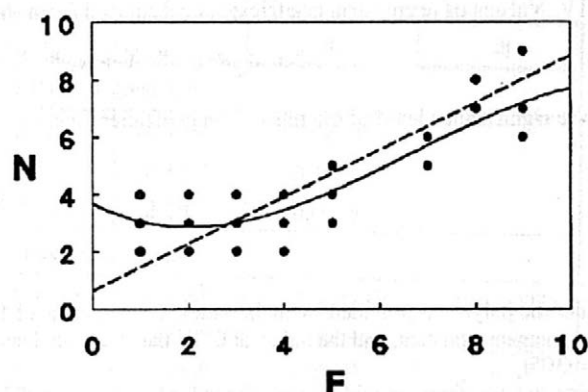
- - - linear function $K = f(H)$

$$K = 9.19 + 10.7H$$

In case of the quadratic relation $N = f(H)$ (Fig. 1) and the cubic relations $H = f(K)$ (Fig. 2) and $N = f(F)$ (Fig. 3) the regressions were statistically significantly different (F -test, $\alpha = 0.05$) from the linear relations with interchanged variables in all the three cases.

3. Relation between the difficulty of swallowing the morsel (N) and the difficulty of biting the morsel off the slice

— cubic function $N = f(F)$
 $N = 3.73 - 0.908F + 0.263F^2 - 0.00133F^3$
 --- linear function $F = f(N)$
 $F = -0.801 + 1.22N$



III. Schematic presentation of calculated regression expressions, whose $|r_{yx}| > 0.8$

		Y																
		A	B	C	D	E	F	G	H	J	K	L	M	N	P	Q	R	S
X	A			1			1			.			.	3		.	.	
	B		.					1		.			.			.	.	
	C	...	...	...	...	...	1	...	1	...	...	...	1	2	...	...	...	...
	D		.							1			.			.	.	
	E		.				3	1	3	.			3	3		.	.	
	F	...	...	...	...	...	...		1	...	...	...	1	3	...	...	...	...
	G		.							.			.			.	.	
	H		.							.	1		1	2		.	.	
	J	...	...	...	...	...	...	...	...		1	...	...	...	...	...	...	...
	K		.	2			3		3	.			3	3		.	.	
	L		.							.			.	3		.	.	
	M	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	1	...	...	...	...
	N		.				1	1		.			.			.	.	
	P		.							.			.			1	1,	
	Q	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	1	...
	R		.							.			.			.	.	
	S		.							.			.			.	.	

1 - linear regression; 2 - quadratic regression; 3 - cubic regression; X - sensory attribute as an independent variable; Y - sensory attribute as a dependent variable

IV. Values of regression coefficients calculated from the regression equations

$$Y = a_0 + a_1 * X + a_2 * X^2 + a_3 * X^3$$

the significance level of the regression coefficient for:	$a \leq 0.0001$	- is indicated as <i>a</i>
	$a \leq 0.0005$	- is indicated as <i>b</i>
	$a \leq 0.001$	- is indicated as <i>c</i>
	$a \leq 0.005$	- is indicated as <i>d</i>
	$a \leq 0.01$	- is indicated as <i>e</i>
	$a \leq 0.05$	- is indicated as <i>f</i>

For the polynoms provided with the index (*), the value of 1 lies within the reliability interval for the regression constant, and the value of 0 in the reliability interval for the intercept on the y axis ($\alpha = 0.05$)

For the polynoms provided with the index (+), the value of 1 lies within the reliability interval for the slope constant ($\alpha = 0.05$)

For the polynoms provided with the index (\$), the value of 0 lies within the reliability interval for the intercept on the y axis ($\alpha = 0.05$)

No.	XY	r_{yx}	a_0	a_1	a_2	a_3
Linear regressions						
1 ^{\$}	CF	0.926	-0.0598	0.897 ^a		
2	FH	0.926	0.316	0.899 ^a		
3	QR	-0.909	6.79	-0.868 ^a		
4 ^{\$}	CH	0.896	0.122	0.834 ^a		
5	HM	0.892	0.907	0.750 ^a		
6 [*]	PR	0.886	-0.623	0.972 ^a		
7 [*]	JK	0.886	0.00708	0.970 ^a		
8 ^{\$}	FM	0.882	0.993	0.711 ^a		
9	MN	0.863	1.20	0.709 ^a		
10	NH	0.860	-0.964	1.25 ^a		
11 [*]	PQ	0.859	-0.792	0.987 ^a		
12 ^{\$}	BG	0.848	5.87	0.846 ^a		
13 ^{\$}	CM	0.842	0.872	0.659 ^a		
14 ^{\$}	DJ	0.841	-3.10	0.740 ^a		
15	HK	0.825	9.19	10.7 ^a		
16 ^{\$}	AC	0.825	-0.131	1.19 ^a		
17 [*]	AF	0.815	-0.416	1.14 ^a		
18 ⁺	EG	0.808	17.7	1.02 ^a		
19	NF	0.805	-0.801	1.22 ^a		

No.	XY	r_{yx}	a_0	a_1	a_2	a_3
Quadratic regressions						
20	HN	0.914	2.90	-0.195 ^f	0.0854 ^a	
21	CN	0.873	3.74	-0.564 ^a	0.104 ^a	
22	KD	0.855	3.70	2.20 ^a	-0.0145 ^a	
Cubic regressions						
23	KH	0.887	-0.153	0.165 ^b	-0.00313 ^c	0.0000275 ^a
24	KF	0.872	-0.539	0.212 ^a	-0.00453 ^a	0.0000366 ^a
25	FN	0.871	3.73	-0.908 ^e	0.263 ^d	-0.0133 ^f
26	KM	8.862	1.44	0.0862 ^f	-0.00204 ^f	0.0000202 ^b
27	EN	0.857	7.89	-0.254 ^a	0.00426 ^a	-0.0000244 ^b
28	KN	0.848	2.02	0.0833 ^f	-0.00238 ^d	0.0000229 ^a
29	LN	0.829	8.94	-0.333 ^a	0.00605 ^a	-0.0000349 ^a
30	EF	0.820	9.88	-0.400 ^a	0.00711 ^a	-0.0000388 ^b
31	AN	0.818	5.39	-2.25 ^a	0.566 ^a	-0.0296 ^c
32	EH	0.813	9.40	-0.316 ^a	0.00604 ^a	-0.0000300 ^d
33	EM	0.812	8.40	-0.265 ^a	0.00396 ^c	-0.0000174 ^f

In some pairs of sensory attributes we have found the linear relations where the straight line calculated with the use of the straight line is equal to 1 (Table IV). The particular calculated value of the reliability interval ($\alpha = 0.05$) of the coefficient a_0 contains the value 0, and the coefficient a_1 the value 1. It is the case of the following functions: $R = f(P)$, $K = f(J)$, $Q = f(P)$, and $F = f(A)$. For the linear function $G = f(E)$ it is valid in the reliability interval of the slope of the straight line lies the value 1 but not the value a_0 ($a_0 = 17.7 \pm 7.0$). On the contrary, in the reliability interval of the coefficient a_0 the value 0 lies in the functions $F = f(C)$, $H = f(C)$, $G = f(B)$, $M = f(C)$, $J = f(D)$, and $C = f(A)$ while in the reliability interval of the slope of these straight lines, the value of 1 was not found.

DISCUSSION

The texture profile used in this study may appear too complicated at the beginning but we have shown its usefulness in our previous paper (P o k o r n ý et al., 1990). Some attributes might seem redundant in our case. Indeed, statistically significant regressions with high correlation coefficients were found between the texture assessment by breaking or crushing the slice of crisp bread in the hands,

and the sensations in the action of biting and at the beginning of chewing (Tables II to IV) which is not in disagreement with the literature (Seymour, Hamann, 1988; Vickers, Christensen, 1980). As relating, however, to other types of food products with low water content, e.g., linear correlation was found between the crispness and the crunchiness, and the correlation between the crispness and the hardness possessed high correlation coefficients as well.

Peleg (1980) compared the texture determined by assessment in the hands and in the mouth in detail. In another paper (Pele, 1983) he observed that the meanings of some terms (such as „hard - solid - tough“ or „crunchy - crispy - brittle“) do overlap in such a degree that even this circumstance can contribute to high values of the correlation coefficient.

In spite of the above relations we recommend the complex texture assessment as given above, both in the hands and in the mouth. Again in agreement with the literature, as obtained with white bread (Stellman, Lundgren, 1987). The reason is that the correlation coefficients were not found so high (Tables II and IV) to justify a simple method of assessment ($r_{yx} < 0.95$).

The complex texture evaluation is not possible when either the assessment at biting the slice or at the first stage of chewing (before the morsel gets moistened with saliva) movements are omitted or without the sensations observed during the continued chewing when the morsel is gradually comminuted and mixed with saliva (Earle, 1979; Brandt et al., 1963) until it is swallowed.

Relations between the first group of attributes (A, C, F, H) and the saliva absorbing capacity of the morsel in the process of chewing were found linear (Tables II and IV) while relations of these attributes and other attributes perceived during the chewing (Table IV) were more complicated, and quadratic or cubic functions were necessary to describe them.

The behaviour during the chewing depends, however, on the type of food material in great degree (Takabashi, Nakazawa, 1987) so that other courses of the regression lines could be obtained in case of other foods than crisp bread. Samples with larger surface require more saliva before the morsel reaches the consistency allowing to swallow it (Pangborn, Lundgren, 197).

Linear or almost linear functions were obtained between the ease of chewing, the force necessary for chewing and the resistance against the disintegration during the chewing (Table IV) which is in agreement with the results obtained with traditional bread.

Important quality attributes of crisp food products are crunching sounds accompanying the consumption because these are closely related to the acceptability of bread consumption (Vickers, 1988). They represent a measure of the crispness of consumed product for the consumer as well (Vickers, 1981).

The same conclusions were reached (V i c k e r s, 1983) when the intensity of sounds and the mechanical force were determined with the use of instrumental methods. Therefore, it is surprising in our experiments, that no significant correlation was found between the difficulty of breaking, crushing the slice of crisp bread, the difficulty of biting, and the difficulty of chewing, on one hand, and the intensity of respective crunching sounds, on the other hand (Table II).

The discrepancy can be explained in such a way that the determination of the intensity of crunching sounds was an unusual test (even for our relatively experienced assessors) so that the exact sound intensity was not accurately measured. This assumption is, however, in disagreement with the existing significant correlations ($r_{yx} > 0.8$) between the four texture attributes (i. e. the descriptors *A*, *C*, *F*, and *H*) with one another, on the one hand, and the corresponding sound intensities (the descriptors *B*, *E*, *G*, *L*) with one another, on the other hand.

The intensities of sounds accompanying the respective operations are thus in similar ratios as the intensities of the respective forces (Table II). This behaviour may be explained in two ways:

(1) these relationships exist but they are not linear, e. g. for combinations of the attributes *E - F*, *E - H*, *E - M*, and *E - N*, cubic regressions were found as optimal (Table IV). The linear regression (C h r i s t e n s e n, V i c k e r s, 1981) are probably valid only in narrower intervals of these textural attributes.

(2) The crunchiness is in better correlation with sharpness, biting sounds than with the intensity of sounds (V i c k e r s, 1985) which was determined in our experiments. In the assessment of crispness by the consumer, the irregularity and discontinuity of sounds is perceived in addition to their loudness (V i c k e r s, W a s s e r m a n n, 1979; V i c k e r s, 1984; et al.). Irregularities between the crunchiness and the character of sounds are enhanced by differences in the moisture content of the samples (V i c k e r s, B o u r n e, 1976), which were particularly great in our set of samples.

Sounds produced by continued chewing were in no significant relation to the results of complex texture assessment which was obviously caused by the greater emphasis on the overall sound intensity, than on the intensity of sounds in certain frequency range (D r a k e, 1970) so that the ratio of higher frequencies influences the result in high degree (L e e et al., 1988).

The determination of relations between respective partial textural attributes and the overall texture quality, as determined by the sensory analysis, is important for the reason that they could replace the sensory texture profiling by a single attribute. In the previous paper (P o k o r n ý et al., 1991) we have shown significant relations

existing between mechanical properties (determined by instrumental methods) and the overall texture quality (determined by the sensory analysis).

It is, therefore, surprising that the determination of individual single sensory characteristics was found as less suitable for this purpose (Tables II and IV).

On the contrary, close correlations were found between the flavour quality or freshness of crisp bread and the overall texture quality, respectively, when all these descriptors were rated with use of the graphical scale (Table II) which was evidently influenced by the fact, that the three attributes were determined one immediately following another. In case of the texture quality assessment based on a category scale, no dependence was proved between different sensory textural attributes and the overall flavour quality, respectively, and the dependence on the freshness of bread was not substantial, too. In a previous paper (P o k o r n ý et al., 1987) we showed that the texture slowly changed during the storage of crisp bread so that the consumer could attribute various texture defects (caused by higher moisture content) to prolonged storage, and connect them with the lack of freshness. Associations between freshness and crunchiness exist among assessors (S z c z e s n i a k, 1988).

When the overall texture was rated with the use of the category ordinal scale, the most pronounced effect was perceived only at the stage of advanced chewing and during swallowing. This observation is in agreement with those on potato chips (L e e et al., 1989), namely, that the whole course of sound changes during the chewing is included into the complex assessment of crispness. The importance of chewing is enhanced by the combined effect of sounds and vibrations of teeth and other parts of the oral cavity (D r a k e, 1970).

The examined set of samples comprised samples with extreme moisture contents (from 1.57 % to 12.78 %) to allow great differences of textural attributes in very broad interval of the scale used. In the texture assessment of cheeses, the assessors showed higher sensitivity to differences in the moisture content than the fat content (M a r s h a l l, K i r b y, 1988), and this effect may be expected as still more pronounced in case of crisp bread.

We have calculated the family of regression curves but the application of this method does not give any new results which would be different from linear, quadratic, and cubic regressions.

By using the cluster analysis (it will be discussed in more detail in our next paper) we have found that the samples containing more than 7 % of water were distinctly different, from the standpoint of texture evaluation, compared with the samples with lower water contents. It was, therefore, considered as useful to examine the correlations between combinations of textural attributes after discarding these high-moisture samples from the complete set. The elimination resulted, however,

only in approaching the distributions of results to the normal (Gaussian) distribution while the character of relations, and the values of correlation coefficients remained essentially unchanged. For this reason we do not give these data here in order to save the space.

As shown already in the methodical part, we have used both the unstructured graphical scale and the category of ordinal scale for the assessment of overall texture quality. The usefulness of these both types of scales was explained in the previous paper (P o k o r n ý et al., 1990). We have compared the results obtained using the above two scales, and was found a significant linear function. In the evaluation of results in this paper we have used parametric methods of statistical evaluation which is principally acceptable in case of graphical scales (M c B r i d e, 1985) but could seem unacceptable for category ordinal scales. Therefore, we have calculated these results by using the nonparametric Spearman's ranking test as well, but we have not obtained substantially different values of correlation coefficients so we do not present the results here. The probable reason for the agreement of results by either the nonparametric or the parametric test is probably the relatively high number of degrees in the category scales used.

List of symbols

Symbol	Definition
X	sensory attribute used as an independent variable
Y	sensory attribute used as a dependent variable
r_{yx}^2	coefficient of determination calculated for the regression $Y = f(X)$
r_{yx}	correlation coefficient calculated for the regression $Y = f(X)$
a_i	calculated constants of the regression polynoms [1] to [3]
y_i	i -th experimental value of the dependent variable Y
y_{vi}	i -th calculated value of the dependent variable Y
$\bar{y}$	arithmetical mean of experimental values of Y
α	significance level of statistical tests
n	number of samples of crisp bread, i.e. $n = 122$
m_j	number of regression coefficients in the j -th regression polynom
F_{v_1, v_2}	calculated Snedecor's value of the F -test for v_1 and v_2 degrees of freedom
χ_0^2	calculated value of the χ^2 test
$\chi_{\alpha, l}^2$	ritical value of the χ^2 test for the number of degrees of freedom used in regression polynoms, i.e. $l = k - 1$ ($l = 4$), on the level of statistical significance of α
v_j	number of degrees of freedom for the j -th regression polynom ($v_1 = n - m_j$)

s_j^2	variance of the solution for the j -th regression polynomial
k	number of regression polynomials tested, i.e. $k = 5$
A to S	explained in Table I

References

- BRANDT, M. A. - SKINNER, E. Z. - COLEMAN, A. J.: Texture profile method. *J. Food Sci.*, 28, 1963 : 404.
- CHRISTENSEN, C. M. - VICKERS, Z. M.: Relationships of chewing sounds to judgments of food crispness. *J. Food Sci.*, 46, 1981 : 574-578.
- DRAKE, B.: The biorheological process of mastication. In: *Rheology and Texture of Foodstuffs*. London, Society of Chemical Industry 1968: 29-39.
- DRAKE, B. K.: Relationships of sound and other vibrations to food acceptability. In: *Proc. 3rd Intern. Congr. Food J. Sci. Technol.*, Washington, 1970 : 437-445.
- DRANSFIELD, E. - FRANCOMBE, M. A. - WHELEHAN, O. P.: Relationship between sensory attributes in cooked meat. *J. Texture Stud.*, 15, 1984 : 33-48.
- EARLE, M. D.: The characteristics of food texture. *Food Technol. New Zeland*, 14, 1979 : 11, 13, 15.
- HOLAS, J. - POSKOČILOVÁ, H.: Extruze v cereálních průmyslu: Křehký chléb. *Mlýnsko-pekár. Prům.*, 32, 1986 : 303-307.
- IZUTSU, T. - WANI, K.: Food texture and Taste: a review. *J. Texture Stud.*, 16, 1985 : 1-28.
- LEE III., W. E. - DEDEIBEL, A. E. - GLEMBIN, C. T. - MUNDAY, E. G.: Analysis of food crushing sounds during mastication: frequencytime studies. *J. Texture Stud.*, 19, 1988 : 27-38.
- LEE III., W. E. - SCHWEITZER, M. A. - MORGAN, G. M. - SHEPHERD, H. C.: Analysis of food crushing sounds during mastication. Total sound level studies. *Inst. Food Technol. ann. Meeting*, Chicago, 1989.
- MARSHALL, R. L. - KIRBY, S. P. J.: Sensory measurement of food texture by free-choice profiling. *J. Sensory Stud.*, 3, 1988 : 63-80.
- McBRIDE, R.L.: Sensory measurement: an introductory overview. *CSIRO Food Res. Quart.*, 45, 1985 : 59-63.
- MUÑOZ, A. M. - CIVILLE, G. V.: Factors affecting perception and acceptance of food texture by American consumers. *Food Rev. int.*, 3, 1987: 285-322.
- OLEHLA, M. - VĚCHET, V. - OLEHLA, J.: Řešení úloh matematické statistiky ve FORTRANU. Praha, NADAS 1982.
- PANGBORN, R. M. - LUNDGREN, B.: Salivary secretion in response to mastication of crisp bread. *J. Texture Stud.*, 8, 1977 : 463-472.
- PELEG, M.: Ein Beitrag zur Empfindlichkeit der mechanischen Testung mittels Fingern, Zunge und Kiefer. *J. Texture Stud.*, 10, 1980 : 245-251.
- PELEG, M.: The semantic of rheology and texture. *Food Technol.*, 37, 1983 : 54-61.

- POKORNÝ, J. - DAVÍDEK, J. - JASNÁ, E. - VIERECKLOVÁ, M. - PÁNEK, J. - HOLAS, J. - HOUŠKA, M. - POKORNÝ, D. - KUBEŠOVÁ, A.: Vliv skladování na texturu extrudovaného křehkého chleba. *Mlýnsko-pekár. Prům.*, 33, 1987 : 229-233.
- POKORNÝ, J. - HOUŠKA, M. - POKORNÝ, D. - KUBEŠOVÁ, A. - VIERECKLOVÁ, M. - JASNÁ, E. - DAVÍDEK, J. - HOLAS, J.: Relations between attributes of the sensory texture quality and mechanical properties of flat crisps bread produced by extrusion technology. *Potrav. Vědy*, 9, 1991 : 161-171.
- POKORNÝ, J. - VIERECKLOVÁ, M. - JASNÁ, E. - DAVÍDEK, J. - POKORNÝ, D. - HOLAS, J.: Hodnocení senzorické jakosti extrudovaného křehkého chleba. *Potrav. Vědy*, 9, 1990 : 143-153.
- SEYMOUR, S. K. - HAMANN, D. D.: Crispness and crunchiness of selected low moisture foods. *J. Texture Stud.*, 19, 1988 : 79-95.
- STÖLLMAN, U. - LUNDGREN, B.: Texture changes in white bread: Effects of processing and storage. *Cereal Chem.*, 64, 1987 : 230-236.
- SZCZESNIAK, A. S.: The meaning of textural characteristics - crispness. *J. Texture Stud.*, 19, 1988 : 51-59.
- TAKANASHI, J. - NAKAZAWA, F.: Evaluation of the food texture by the masticatory pattern. 1. Analysis of chewing force pattern in the mouth. *Kaseigaku Zasshi*, 38, 1987 : 107-113.
- TSUJI, S.: Estimation of the texture of bread by multi-point mensuration method and its correlation to the mouthfeeling by sensory test. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 25, 1978 : 348-349.
- VICKERS, Z. M.: Relationship of chewing sounds to judgments of crispness, crunchiness and hardness. *J. Food Sci.*, 47, 1981 : 121-124.
- VICKERS, Z. M.: Pleasantness of food sounds. *J. Food Sci.*, 48, 1983 : 783-786.
- VICKERS, Z. M.: Crispness and crunchiness: a difference in pitch. *J. Texture Stud.*, 15, 1984 : 157-163.
- VICKERS, Z. M.: The relationships of pitch, loudness and eating technique to judgments of the crispness and crunchiness of food sounds. *J. Texture Stud.*, 16, 1985 : 85-95.
- VICKERS, Z. M.: Instrumental measures of crispness and their correlation with sensory assessment. *J. Texture Stud.*, 19, 1988 : 1-4.
- VICKERS, Z. M. - BOURNE, M. C.: A psychoacoustical theory of crispness. *J. Food Sci.*, 41, 1976 : 1158-1164.
- VICKERS, Z. M. - CHRISTENSEN, C. M.: Relationships between sensory crispness and other sensory and instrumental parameters. *J. Texture Stud.*, 11, 1980 : 291-307.
- VICKERS, Z. M. - WASSERMAN, S. S.: Sensory qualities of food sounds to judgments of food crispness. *J. Food Sci.*, 46, 1979 : 574-578.
- ISO 8589: Sensory analysis - Methodology - General guidance for the design of test rooms. Genève, International Organization for Standardization, 1988.
- ISO 8586: Sensory analysis - Methodology - General guidance for the selection, training and monitoring of assessors . selected assessors. Genève, International Organization for Standardization, 1990.

Received for publication October 10, 1990

F. Strejček, J. Pokorný, M. Virecklová, D. Pokorný, J. Holas
(Vysoká škola chemickotechnologická, Praha)

Vztahy mezi výsledky jednotlivých ukazatelů senzoričského hodnocení křehkého chleba

U souboru 12 vzorků křehkého chleba vyrobeného extruzní technologií byly zkoumány vzájemné vztahy mezi 17 ukazateli senzoričského profilu. Velká většina vztahů byla statisticky významná, ale jen u některých byly korelační koeficienty vyšší než 0,8. Závislosti byly převážně lineární, někdy byly lépe popsány kvadratickými nebo kubickými rovnicemi, nikdy však exponenciálními nebo hyperbolickými. Málo důležité se projevíly vztahy mezi texturou a intenzitou zvuků doprovázející konzum a nepříliš významné byly také vztahy mezi dílčími ukazateli textury a celkovou jakostí textury. Těsný byl však vztah mezi chutností a čerstvostí vzorků a celkovou texturou. Obsah vody ve vzorcích neměl podstatný vliv na charakter závislostí. Použití neparametrických metod statistického zpracování neposkytlo výsledky podstatně odlišné od metod parametrických.

křehký chléb; textura; senzoričská analýza; regresní vztahy ukazatelů

REZIDUA DAMINOZIDU V JABLEČNÝCH PRODUKTECH

Kateřina HOLADOVÁ, Jana HAJŠLOVÁ, Vladimír KOCOUREK¹, Hana MÍŠKOVÁ

Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha;

¹Český ekologický ústav, Údernická 1931, 140 00 Praha 4

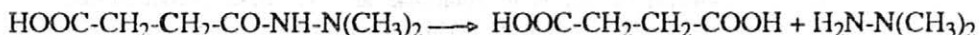
Růstový regulátor daminozid (aktivní složka přípravku Alar 85) je prekurzorem toxického 1,1-dimethylhydrazinu a proto je nutné sledovat výskyt jeho reziduí v ovoci a ovocných výrobcích. V práci byla aplikována nepřímá metoda stanovení, při níž vlastním analytem byl zmíněný hydrazin uvolněný z mateřské látky alkalickou hydrolýzou. Po převedení na těkavý derivát reakcí se salicylaldehydem byla kvantifikace reziduí provedena pomocí plynové chromatografie. Pro hladiny daminozidu 0,05 ppm a vyšší lze pro detekci využít dusíko-fosforový detektor, zhruba pětikrát nižší mez stanovitelnosti umožňuje hmotnostní fragmentografie. Vyšetření řady reálných vzorků jablek a jablečných koncentrátů potvrdilo relativně značný rozsah kontaminace konzervářských surovin a produktů reziduí daminozidu.

daminozid; 1,1-dimethylhydrazin; morforegulátory; jablečné koncentráty

Přípravky na bázi daminozidu (2,2-dimethylhydrazid kyseliny jantarové) byly do zemědělské praxe zavedeny na začátku šedesátých let. Z hlediska účinku na rostliny lze daminozid zařadit mezi morforegulátory. Cílem aplikací na jabloně, případně na meruňky a broskve (dosud neplodící), je především omezení vegetativního růstu, zvýšení tvorby květních pupenů a zmenšení rozsahu opadu plodů (A n o n y m; Z í k a, 1979). Z dalších efektů doprovázejících nasazení daminozidu lze uvést zlepšení vybarvování červených plodů a zvýšení pevnosti jejich dužniny, což souvisí mimo jiné i se zlepšením skladovatelnosti tohoto ovoce (D o z i e r et al., 1985).

Daminozid je látka dobře rozpustná ve vodě (100 g/l při 25 °C), která je rychle translokována do všech částí rostlin. Většina prací věnovaných dynamice reziduí daminozidu v různých plodinách shodně poukazuje na jeho relativně značnou perzistenci. Tak např. v jablkách ošetřených přípravkem Alar 85 v souladu s doporučením výrobce (Uniroyal Chem. Co., USA), byla ve sklizňovém období (100 dní po aplikaci) nalezena rezidua daminozidu na hladinách jednotek ppm (E d g e r t o n et al., 1967). Obdobné i vyšší nálezy byly zjišťovány v ošetřených třešních, přičemž hladiny reziduí byly úměrné koncentraci použitého postřiku

(R y u g o, 1966; A l l e n, 1980). S ohledem na relativně nízkou hodnotu akutní toxicity (např. LD_{50} pro krysy při orálním podávání je 8400 mg na 1 kg živé hmoty) byly hladiny reziduálních limitů pro daminozid v řadě zemí desítky ppm (např. původní limit v USA byl pro jablka 30 ppm). Již v sedmdesátých letech však některé toxikologické studie, resp. dlouhodobé experimenty se zvířaty upozornily na karcinogenní potenciál této látky (T o t h et al., 1977). Za vlastního nositele karcinogenních účinků je považován 1,1-dimethylhydrazin (R o e et al., 1967; T o t h, 1973), který může vznikat rozkladem daminozidu. I když rozsah metabolické konverze, zjištěný při orální aplikaci krysám či dojnicím, nebyl vysoký (93 až 95 % mateřské látky bylo zvířaty beze změny z organismu vylučováno - National Cancer Inst., 1987), toxicita produktů vznikajících enzymovou hydrolýzou daminozidu a jejich následnou N-oxidací je značná (C h e v r i e r, P f i s t e r, 1975; B r o w n, C a s i d a, 1988). Také při zpracování a skladování kontaminovaného ovoce a zeleniny dochází k částečné hydrolýze daminozidu, resp. k tvorbě 1,1-dimethylhydrazinu:



Např. experimentálně zjištěný stupeň konverze daminozidu (výchozí koncentrace 30 ppm) na 1,1-dimethylhydrazin po jednohodinovém varu kontaminovaného jablečného pyré byl zhruba 6 % (N e w s o m e, 1980). Skutečnost, že tepelné zpracování surovin kontaminovaných daminozidem vede k tvorbě 1,1-dimethylhydrazinu, potvrdila i rozsáhlá studie (S a x t o n et al., 1989) věnovaná konzervářským produktům. Vedle zmíněného dimethyl derivátu hydrazinu může být daminozid prekurzorem též dalšího karcinogenního produktu — 1,1-dimethylnitrosaminu, který může v životním prostředí vznikat fotochemickou oxidací mateřské látky singletovým kyslíkem (B r o w n, C a s i d a, 1988).

Ze všech výše uvedených skutečností je zřejmé, že vedle řady pozitivních aspektů nese s sebou aplikace daminozidu i určitý stupeň rizika. V roce 1985 americký úřad pro životní prostředí (Environmental Protection Agency - EPA) oznámil úmysl zakázat používání morforegulačních přípravků obsahujících jako účinnou složku daminozid. Vědecká rada si však vyžádala další toxikologická data a síť vybraných laboratoří byla pověřena sledováním frekvence výskytu daminozidu a jeho degradačního produktu 1,1-dimethylhydrazinu v ovoci distribuovaném na americkém trhu. Rozsah aplikace přípravku Alar byl omezen a zároveň byly sníženy hygienické limity pro daminozid (v jablkách na 20 ppm, na 55 ppm v třešních a na 10 ppm v hroznech). Průzkum provedený v roce 1986 prokázal (E P A, 1987), že rezidua daminozidu sice nepřekračují zmíněné limity,

nicméně byla detekována zhruba v 87 % vyšetřovaných vzorků ovoce; průměrná hladina byla 1,02 ppm. 1,1-dimethylhydrazin byl zjištěn u 71 % vzorků, v průměru na hladině 3 ppb. Výše uvedený orgán znovu navrhl zákaz používání daminozidu s ohledem na jeho toxické vlastnosti a zároveň upozornil na skutečnost, že právě u nejcitlivější skupiny populace, u dětí, představuje ovoce významnou položku denní diety, která v poměru k tělesné hmotnosti je vyšší než u dospělých. Přes nesporně značný ekonomický efekt vyplývající z aplikace přípravku Alar, předpokládá se úplná eliminace tohoto přípravku ze zemědělské praxe ve Spojených státech, resp. neuvažuje se o jeho dalším použití pro ošetření rostlin určených k lidské výživě.

Pokud jde o metody využívané pro sledování daminozidu, většina z nich vychází z nepřímého stanovení 1,1-dimethylhydrazinu uvolněného z mateřského hydrazidu kyseliny jantarové alkalickou hydrolýzou. Nejstarší práce využívaly kolorimetrické koncovky, přičemž uvedeným derivátem hydrazinu byla redukována fosfomolybdenová kyselina na fosfomolybdenovou modř (E d g e r t o n, 1967). Kolorimetricky byl též stanovován formaldehyd vznikající oxidací 1,1-dimethylhydrazinu oxidem seleničitým (L y n c h, 1969; D i c k s, 1971). Popsána byla též spektrofotometrická metoda, která pro kvantifikaci uvolněného 1,1-dimethylhydrazinu využívala barevný produkt vznikající reakcí s pentakyanželeznatanem sodným. Protože citlivost uvedených metod nebyla dostatečná (řádově jednotky ppm), nahradily je v osmdesátých letech metody chromatografické, které umožňovaly sledovat i nižší hladiny daminozidu a jeho hlavního degradačního produktu. Při využití plynové chromatografie s detektorem elektronového záchytu byl volný i z reziduí daminozidu uvolněný 1,1-dimethylhydrazin po reakci s pentafluorbenzoylchloridem stanoven v rostlinném materiálu až na hladině 10 ppb (N e w s o m e, 1980). Obdobný detekční limit lze dosáhnout i při převedení 1,1-dimethylhydrazinu na kondenzační produkt s 2-nitrobenzaldehydem (W r i g h t, 1987). V jiné práci (A l l e n, 1980), zabývající se sledováním daminozidu v třešních, byl uvolněný 1,1-dimethylhydrazin po kondenzaci se salicylaldehydem a plynově chromatografické separaci detekován dusíko-fosforovým detektorem. Ve formě stejného analytu, avšak s využitím hmotnostního detektoru, resp. hmotnostní fragmentografie, byla provedena stanovení reziduí ve vzorcích různých poživatin s vyšším obsahem bílkovin. Autoři (C o n d i t t, B a u m g a r d n e r, 1988) uvádějí detekční limit pro daminozid 0,01 ppm. V literatuře (L i u et al., 1989) bylo uvedeno i stanovení daminozidu bez předchozí hydrolýzy. Sledovaná rezidua byla nejprve esterifikována methanolem a po té analyzována plynovou chromatografií s využitím chemické ionizace pro hmotnostně spektrometrickou detekci.

Cílem předkládané práce byl výběr a optimalizace vysoce citlivého a specifického analytického postupu pro sledování i velmi nízkých hladin reziduí daminozidu ve vybraných konzervářských produktech.

MATERIÁL a METODY

Materiály — Analyzovány byly vzorky jablek a jablečných koncentrátů - suroviny a produkty konzervářského průmyslu.

Chemikálie — Standard daminozidu byl získán darem z ÚKZÚZ Brno. Z něho připravený zásobní roztok obsahoval 1 mg na ml vody. Standard 1,1-dimethylhydrazinu dodala firma Aldrich (Belgie), zásobní roztok o koncentraci 1mg/ml byl připraven v 1N kyselině chlorovodíkové.

Ostatní chemikálie - chlorid vápenatý, chlorid sodný, hydroxid sodný, síran sodný, hydrazin, benzaldehyd, salicylaldehyd, 12% roztok chloridu titanitého v kyselině chlorovodíkové - byly čistoty p.a. a dodala je Lachema Brno. Organická rozpouštědla - dichlormethan, isooktan - byla čištěna destilací.

Přístroje — Skleněná destilační aparatura opatřená míchadlem, plynový chromatograf Hewlett-Packard 5890 vybavený hmotnostním detektorem HP 5970, plynový chromatograf Hewlett-Packard 5880 A vybavený dusíko-fosforovým detektorem.

Pracovní postupy — *Princip metody:* Rezidua daminozidu obsažená ve vzorcích byla hydrolyzována v alkalickém prostředí na 1,1-dimethylhydrazin, který byl po předestilování s vodní parou převeden reakcí se salicylaldehydem na salicylaldehyddimethylhydrazon. Tento produkt byl po izolaci stanoven plynovou chromatografií.

Příprava vzorku: Do tříhrdlé destilační baňky bylo naváženo 50 g (s přesností na 0,1 g) zhomogenizovaného vzorku, 20 g chloridu vápenatého, dále bylo přidáno 160 ml 50% roztoku hydroxidu sodného a 8 ml 12% roztoku chloridu titanitého. Obsah baňky byl 30 minut mírně zahříván za stálého míchání a poté byla teplota zvýšena a bylo jímáno 20 ml destilátu do dělené zkumavky obsahující 20 µl salicylaldehydu. Zkumavka byla pevně uzavřena a umístěna na 60 minut do lázně vyhřáté na 50 °C, kde proběhla derivatizace. Po ochlazení byl obsah zkumavky kvantitativně převeden do 50ml dělicí nálevky a po přidavku 3 g chloridu sodného byl derivát extrahován z vodní fáze 2 x 8 ml dichlormethanu. Extrakt byl přesušen bezvodým síranem sodným, odpařen do sucha proudem dusíku a odparek rozpuštěn v 1 ml roztoku vnitřního standardu (benzaldehydhydrazon, koncentrace 5 µg/ml isooktanu).

Ověření opakovatelnosti a výtěžnosti metody: Vzorek jablek či jablečného koncentrátu prostý reziduí daminozidu byl před zpracováním kontaminován vodným roztokem daminozidu na hladinu 0,05 mg/kg (ppm) a dále zpracován výše uvedeným postupem.

Příprava vnitřního standardu: 500 µg hydrazinu bylo ve vodném prostředí derivatizováno 30 µl benzaldehydu (90 minut, 50 °C). Vzniklý derivát byl extrahován dichlormethanem a po odpaření rozpouštědla rozpuštěn ve 100 ml isooktanu.

Podmínky plynově chromatografického stanovení

a) s využitím dusíko-fosforového detektoru

Kolona: křemenná kapilára HP-5 (10 m x 0,53 mm, tloušťka filmu 2,65 µm)
 Teplota injektoru: 250 °C, nastříkované množství 1 µl (splitless perioda 1 minuta)
 Teplota detektoru: 300 °C
 Teplotní program: 60 °C 1 min, poté vzrůst po 20 °C/min do 190 °C, dále vzrůst po 5 °C/min do 230 °C, nakonec vzrůst po 20 °C/min do 250 °C
 Průtok nosného plynu (dusík): 5 ml/min
 Make up (dusík): 15 ml/min
 Dělič toku: 40 ml/min

b) s využitím hmotnostního detektoru

Kolona: křemenná kapilára HP-5 (30 m x 0,32 mm x tloušťka filmu 0,33 µm)
 Teplota injektoru: 230 °C, nastříkované množství 1 µl (splitless perioda 1,5 min)
 Teplotní program: 50 °C 2 min, poté vzrůst po 35 °C/min do 190 °C, dále vzrůst po 4 °C/min do 260 °C
 Průtok nosného plynu (helium): 0,5 ml/min

V režimu SIM byly monitorovány ionty (100 ms každý): m/z 121, 134 a 164. Pro kvantitativní vyhodnocení byl použit ion m/z 164. Vnitřní standard byl monitorován při m/z 208 v časovém úseku od 20 minut.

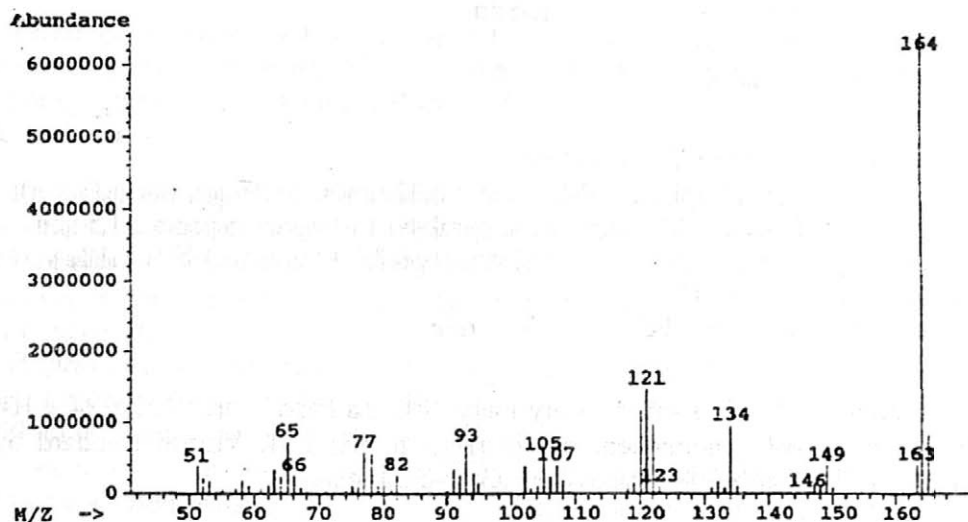
VÝSLEDKY a DISKUSE

Údaje o toxicitě daminozidu, resp. 1,1-dimethylhydrazinu, jehož je prekurzorem, si v řadě zemí vynutily zvýšenou pozornost věnovanou kontrole reziduí v ovoci a v některých ovocných výrobcích. S touto skutečností souvisí i požadavek zahraničních partnerů odebírajících od našich konzervářských podniků jablečné koncentráty, aby rezidua daminozidu v těchto produktech nepřekračovala hladiny

0,01 ppm. Tato hodnota je podstatně nižší než maximální hygienické limity platné podle dostupných materiálů v USA (viz úvodní kapitola) a zřejmě jde o důsledek snahy postupně eliminovat aplikaci růstových regulátorů na bázi daminozidu v ovocnářské praxi.

V souvislosti se značně „přísným“ požadavkem pokud jde o přípustná rezidua, bylo nutné zavést takový analytický postup, jehož citlivost by při dostatečné selektivitě umožňovala kontrolu daminozidu na hladinách 0,01 ppm, příp. i nižších.

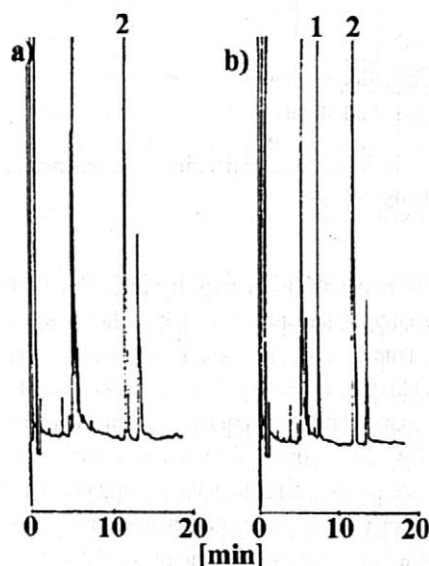
Na základě zhodnocení parametrů, a zejména deklarovaných hodnot detekčních limitů metod uváděných v literatuře, byl v úvodní fázi zvolen postup spočívající v nepřímém stanovení daminozidu pomocí plynové chromatografie (C o n d i t t, B a u m g a r d n e r, 1988). Na obr. 1 je hmotnostní spektrum vlastního analytu — N,N-dimethylhydrazonu salicylaldehydu, vznikajícího kondenzací 1,1-dimethylhydrazinu se salicylaldehydem. Jak je zřejmé, molekulový ion (M^+) m/z 164 je současně nejintenzivnějším píkem spektra. Dalšími intenzivními ionty spektra jsou m/z 134 (14 %) a m/z 121 (24 %).



1. Hmotnostní spektrum salicylaldehyddimethylhydrazonu – EI mass spectrum of salicylaldehyde dimethylhydrazone

Pozornost byla dále zaměřena na optimalizaci procesu izolace 1,1-dimethylhydrazinu a jeho následné derivatizace. Proti výše citované práci bylo nutné pro dosažení 100% výtěžnosti 1,1-dimethylhydrazinu z reakční směsi jímát dvojnásobný objem destilátu. Obtížně dostupný a nestabilní chlorid titanitý byl možné

sobný objem destilátu. Obtížně dostupný a nestabilní chlorid titanitý bylo možné nahradit síranem titanitým vyrobeným redukcí síranu titaničitého zinkovým amalgámem. Maximálního výtěžku derivatizačního kroku bylo dosaženo po 60 minutách (při 50 °C). Po 90 minutách došlo již k poklesu obsahu sledovaného produktu - zhruba o 50 %. Pozornost je třeba věnovat též úpravě pH reakčního prostředí, které by nemělo klesnout pod 6. Při pH 5 je již výtěžnost derivatizace jen 90%.



2. Chromatogram jablečného koncentrátu (50 mg), detekce NPD — GLC/NPD analysis of apple juice. The injection represents an equivalent of 50mg sample

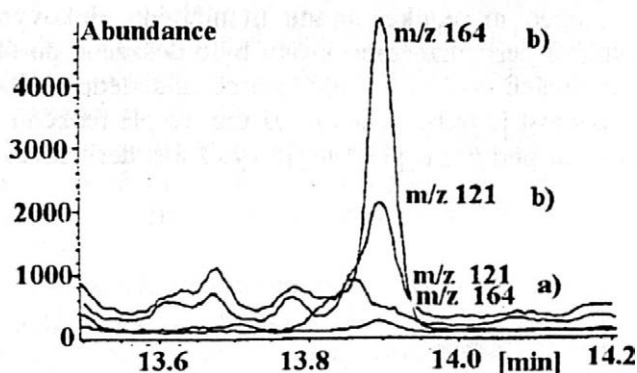
a) kontrola — blank

b) kontaminovaný vzorek (1ppm) — contaminated sample (1 ppm of daminonide)

1 = analyt — analyte

2 = vnitřní standard — internal standard

Před zahájením analýz reálných vzorků bylo nutné též řešit otázku chromatografické separace koextrahovaných složek od analytu i zhodnotit dosaženou citlivost jeho detekce. Jak ilustruje obr. 2, při použití křemenné wide-bore kapiláry HP-5 byl pík N,N-dimethylhydrazonu salicylaldehydu dobře oddělen od koextraktů detekovaných dusíko-fosforovým (NP) detektorem. Protože při aplikaci nástřikové techniky splitless nebylo dosaženo metodou absolutní kalibrace uspokojivých výsledků, resp. přesnosti, hledali jsme vhodný vnitřní standard. Z mnoha testovaných dusíkatých látek se nejlépe osvědčil hydrazon benzaldehydu. Tato látka sice není běžně k dispozici jako primární standard, ale lze ji připravit obdobně jako vlastní analyt. V roztoku isooktanu je stabilní nejméně po dobu čtyř týdnů. Odezva obou sledovaných hydrazonů byla lineární v rozmezí 10 až 150 µg/ml. Mez stanovitelnosti za podmínek popsanych v experimentální části byla 0,05 mg/kg. Pro sledování reziduí na nižších hladinách bylo nutné použít k detekci hmotnostní fragmentometrii. Při práci s daným typem hmotnostního



a) kontrola – blank
b) kontaminovaný vzorek
(0,05 ppm) – contaminated
sample (0.05 ppm of dami-
nozide)

3. Chromatogram jablek (50 mg), detekce MS — GLS/MS determination of daminozide in apples. The injection represents an equivalent of 50mg sample

detektoru, resp. při přímém zavedení kolony do iontového zdroje by průtoky nosného plynu neměly překročit 1,0 ml/min. Je proto nutné používat kapilární kolony s malými vnitřními průměry (0,2 až 0,32 mm), což se pochopitelně promítá i v delších dobách analýzy. Stanovení reziduí daminozidu v jablečném koncentrátu na hladině 0,05 ppm ilustruje obr. 3. Při hmotnostně fragmentometrické detekci byly monitorovány ionty m/z 121, 134 a 164. Je patrné, že molekulový iont je nejselektivnější a jak již bylo dříve diskutováno, poskytuje nejvyšší odezvu, a proto byl dále používán pro kvantitativní vyhodnocení. Mez stanovitelnosti při využití monitorizace vybraných iontových druhů byla 0,01 ppm. Hodnota výtěžnosti pro přidavek daminozidu na hladinu 0,05 ppm byla 112 % ($s = 20$ %).

Při vyšetření rozsáhlého souboru vzorků byla vzhledem k vyšší citlivosti i selektivitě použita detekce hmotnostní fragmentografií. Získané výsledky jsou uvedeny v tab. I.

Z osmi vzorků analyzované suroviny - jablek - bylo šest negativních, jeden obsahoval stopy a v jednom bylo nalezeno 0,9 mg/kg daminozidu.

Uvedená tabulka dokumentuje rozdíly ve zhodnocení dvou různých souborů výsledků z vyšetření prováděných ve stejném období (září až prosinec 1989). V prvním případě (A) se jednalo o cílená vyšetření omezená na určitou lokalitu (kraj) s cílem vyhledat zdroj kontaminace. Ve druhém případě (B) byly provedeny náhodné odběry vzorků jablečných koncentrátů z většiny konzervářských závodů, které se v té době zabývaly jeho výrobou. Cílem bylo získání přehledu o četnosti výskytu daminozidu a jeho reálných hladinách v českých koncentrátech.

Nalezené hodnoty lze v obou případech považovat za poměrně nízké, přičemž hladiny vyšší než 0,1 mg/kg byly zjištěny pouze při systematickém vyšetřování

I. Obsah daminozidu ve vzorcích jablečných koncentrátů — Content of daminozide in apple juice concentrate samples

	Celkem ¹ <i>n</i>	Negativní ² >0,05	Stopy ³ >0,01	0,01- 0,1	0,1- 0,5	0,5-1	<1,0	Min.	Max.	Průměr ⁴		Nadlimitních ⁵ <i>n</i> (%)
				[mg · kg ⁻¹]						1	2	
A	57	35 (61 %)	6	8	4	2	2	>0,005	1,82	0,26	0,1	16 (28%)
B	28	22 (79 %)	3	3	0	0	0	>0,005	0,068	0,021	>0,001	3 (11%)

A = cílená vyšetření ve sledované lokalitě — target examinations at a given locality

B = náhodné odběry z celé České republiky — random samplings in the whole of the Czech Republic

1 = z pozitivních vzorků — of positive samples; 2 = z celého souboru — of the whole set

¹in total; ²negative; ³traces; ⁴average; ⁵above limit

indikovaného případu. Závažnější než výše obsahu daminozidu je podle našeho názoru vysoká četnost pozitivních výsledků, které jednoznačně indikují „zneužívání“ přípravku Alar 85 při pěstování jablek (v Seznamu povolených přípravků na ochranu rostlin vydaném MZe ČR v roce 1990 se povoluje aplikace jen na dosud neplodící jabloně). Vstupní kontrolu suroviny pro výrobu koncentrátů však nelze prakticky zajistit, neboť provedení analýz je velmi nákladné, poměrně zdlouhavé a zvláště u drobných pěstitelů organizačně nemožné. Řešení je tedy spíše v oblasti prevence.

L i t e r a t u r a

ALLEN, J. G.: Daminozide residues in sweet cherries, and their determination by colorimetric and gas-liquid chromatographic methods. *Pestic. Sci.*, 11, 1980 : 347-350.

ANONYM: Alar 85 a plant growth regulant. Uniroy division of Uniroyal, Inc., Nangatuck, Conn. USA.

BROWN, M. A. - CASIDA, J. E.: Oxidative conversion of daminozide to methylating and acylating agents. 1988.

CONDITT, M. K. - BAUMGARDNER, J. R.: GC/MS determination of daminozide in high protein food products. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, V7, 1988 : 735.

DICKS, J. W.: *Pestic. Sci.*, 2, 1971 : 176.

DOZIER, W. A. - RYMAL, K. S. - KNOWLES, J. W. - PITTS, J. A. - REED, R. B.: Residue levels of daminozide in apple trees sprayed the preceding spring and summer. *J. Food Protect.*, 48, 1985 : 1058.

- EDGERTON, L. J. - ROCKEY, M. L. - ARNOLD, H. - LISH, D. J.: Colorimetric determination of Alar residues in apples. *J. Agric. Food Chem.*, 15, 1967 : 812
- CHEVRIER, J. P. - PFISTER, A.: Toxicity of 1,1-dimethylhydrazine in animals. II. Chronic poisoning. *Eur. J. Toxicol.*, 7, 1974 : 242, *Excerpta Med. Med.*, 34, 1975 : 806 (section 30).
- LIU, CH. H. - MATTERN, G. C. - SINGER, G. M. - ROSEN, J. D.: Determination of daminozide in apples by gas chromatography/chemical ionization mass spectrometry. *J. Assoc. Anal. Chem.*, V72, 1989 : 984-986.
- LYNCH, V. P.: Method for determining Alar (B-995) residues in apples. *J. Sci. Food Agric.*, 20, 1969 : 13.
- NEWSOME, W. H.: Determination of daminozide residues on foods and its degradation to 1,1-dimethylhydrazine by cooking. *J. Agric. Food Chem.*, 28, 1980 : 319-321.
- ROE, F. J. - GRANT, G. A. - MILLICAN, D. M.: Carcinogenicity of hydrazine and 1,1-dimethylhydrazine for mouse lung. *Nature (London)*, 216, 1967 : 375.
- RYUGO, K.: Persistence and mobility of Alar and its effect on anthocyanin metabolism in sweet cherries. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 88, 1966 : 160.
- TOTH, B.: *J. Natl. Cancer. Inst.*, 50, 1973 : 181-187.
- TOTH, B. - WALLCAVE, L. - PATIL, K. - SCHMELTZ, I. - HOFFMANN, D.: Induction of tumors in mice with the herbicide succinic acid 2,2-dimethylhydrazide. *Cancer Res.*, 37, 1977 : 3497.
- WRIGHT, D.: New method for the determination of 1,1-dimethylhydrazine residues in apples and peaches. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 70, 1987 : 718-720.
- ZÍKA, J.: Dynamika reziduí Alaru-85 v jablkách. *Agrochémia*, 19, 1979 : 332-333.
- EPA OFFICE OF PESTICIDES AND TOXIC SUBSTANCES: Memorandum - Daminozide special review. Phase III 1986, Uniroyal market basket survey. May 18, 1987.
- National Cancer Institute: Bioassay of daminozide for possible carcinogenicity. Carcinogenesis Technical Report, Series No. 83, DHEW publication No. 78-1333, National Institutes of Health: Bethesda, MD, 1978 : 114

Došlo dne 18. 4. 1991

K. Holadová, J. Hajšlová, V. Kocourek, H. Mišková
(*Institute of Chemical Technology, Praha, Czech Republic*)

Residues of daminozide in apple products

Daminozide (succinic acid 2,2-dimethylhydrazide) is an active ingredient of the widely used plant growth regulator Alar, which has been marketed since 1963. Alar is applied to control induction of flowering, to reduce fruit drop as well as to prevent spoilage and watercore development. An improvement of colour, firmness of pulp and storage quality of treated crops can often be observed. This preparation was registered for use on several crops including apples, peaches, tomatoes, grapes, peanuts, etc.

In our study an indirect method of determination was applied for the trace analysis of daminozide in apple and apple juice concentrate. The procedure consisted in hydrolysis

of daminozide in strong alkali and following isolation (by distillation) of released 1,1-dimethylhydrazine (UDMH). UDMH is then derivated by salicylaldehyde and the arising volatile product is quantified after extraction by means of GLC/NPD or GLC/MS (SIM). The limit of MS quantification, i.e. the lowest level at which daminozide can be measured with reasonable reliability of data, was 0.5 ng per injection, which corresponds to 0.01 ppm. Mass chromatograms of blank and contaminated sample are shown in Fig. 3. As can be seen (Fig. 2), GLC/NPD determination represents an acceptable analytical alternative, but due to the lower sensitivity of detection, only samples containing daminozide at levels higher than 0.05 ppm can be analyzed in this way.

GLC separations of samples were carried out on fused silica HP-5 columns (10 m, 0.53 mm I.D., film 2.65 μm) in the case of NPD and (30 m, 0.32 mm I.D., film 0.33 μm) when MS was used. An internal standard method ((bis)benzaldehyde hydrazone was used as i.s.) was applied for quantification.

Daminozide levels determined in the course of analyses of a large set of apple juices are summarized in Table I.

daminozide; 1,1-dimethylhydrazine; growth regulator; apple juice



**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**



ZMENY LIPIDOV PRI KOMBINOVAanej METóDE KONZERVÁCIE POTRAVÍN S APLIKÁCIou GLYCÍnu

Mária TAKÁCSOVÁ, Slavomíra DUDÁŠOVÁ¹, Bernadette HOZOVÁ,
Alica RAJNIAKOVÁ, Iveta MINAROVÍČOVÁ

Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

¹Výskumný ústav výživy ľudu, Limbová 14, 833 37 Bratislava

Za účelom rozšírenia poznatkov o prípadných antioxidačných účinkoch aminokyseliny glycínu sme sa zamerali na sledovanie zmien lipidov v priebehu 20-týždňového skladovania modelových vzoriek Domáci hovädzí guláš, konzervovaných pasterizáciou pri teplote 98 °C v priebehu 20 minút v kombinácii s prídavkom glycínu. Porovnávacie vzorky boli vzorky mrazené, balené do PE obalov a vzorky sterilizované v plechovkách. Využitie metódy plánovaného experimentu nám umožnilo znížiť počet pripravených vzoriek a analýz čísla kyslosti, peroxidového a tiobarbiturového čísla, ktoré charakterizujú zmeny lipidov. Faktormi boli čas skladovania 0 až 20 týždňov a koncentrácia glycínu v rozpätí 0 až 3 %. Dosiahnuté výsledky sme spracovali na počítači EC 10 10 programom ROUCEKOP. Zistili sme, že z hľadiska stability lipidov je najvhodnejšia konzervácia kombináciou nižšieho tepelného zásahu pri teplote 98 °C počas 20 minút s 2,0 % až 2,7% prídavkom glycínu.

plánovaný experiment; hovädzie mäso; kombinovaná metóda konzervácie; pasterizácia; glycín; zmeny lipidov

V poslednom období sa venuje zvýšená pozornosť výberu a výskumu látok s antimikrobiálnymi a antioxidačnými účinkami, ktoré sú prirodzenou zložkou potravín. K takýmto látkam patria aj aminokyseliny, peptidy a príbuzné zlúčeniny, mastné kyseliny, estery, alkoholy a pod.

Určitú pozornosť sme zamerali na výskum niektorých aminokyselín, ktoré by sa mohli prípadne využiť pri konzervácii potravín. V dostupných literárnych prameňoch sa udáva, že z 22 testovaných aminokyselín má glycín relatívne vysokú antibakteriálnu aktivitu, preto sa viac prác zaoberá štúdiom konzervačného účinku tejto aminokyseliny (S h i b a s a k i, 1982). V Japonsku sa v posledných rokoch používa ako antimikrobiálna látka v zmesi s povolenými konzervačnými látkami, pričom sa zistilo, že antimikrobiálny účinok je podmienený minimálnou koncentráciou v rozsahu od 2 do 5 % (K o m a g a t a et al., 1968). Niektorí autori sa zaoberajú sledovaním mechanizmu pôsobenia glycínu na vybrané druhy

mikroorganizmov (H a m m e s et al., 1973; S h i b a s a k i, 1982; A n d o et al., 1975; T s u t s u m i, O h o t a k a, 1985).

S problematikou antioxidačného účinku amínokyselín sa stretávame v niektorých dostupných literárnych prameňoch (A h m a d et al., 1983; R o d r i g u e z - P a l a c i o n s, 1984; S h a h i d i et al., 1986).

Za účelom rozšírenia poznatkov o antioxidačných účinkoch amínokyselín, zamerali sme sa na netradičný spôsob kombinácie pasterizácie s prídavkom amínokyseliny glycínu, ktorá sa aplikuje do niektorých potravín v dôsledku svojich antimikrobiálnych účinkov.

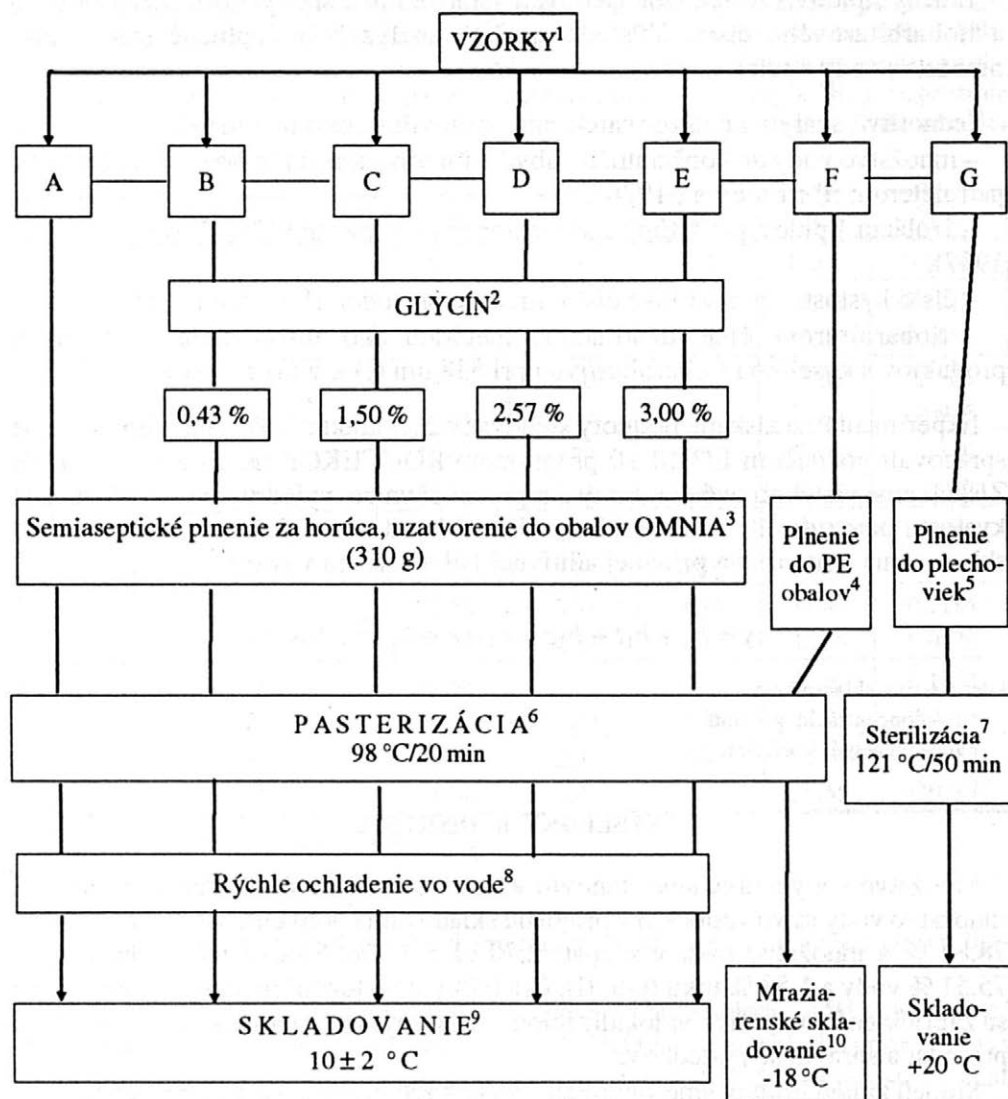
MATERIÁL a METÓDY

Modelové vzorky „Domáci hovädzí guláš“ sme pripravili podľa ČSN 57 6099 s vylúčením prísad. Po aplikácii glycínu sme vzorky pasterizovali pri teplote 98 °C v priebehu 20 minút v obaloch OMNIA. Základnou surovinou bolo hovädzie zadné výrobné mäso s 3,5% prídavkom bravčovej masti a s 1,2% prídavkom soli. Mäso bolo zbavené tukového tkaniva, pokrájané na kocky o veľkosti asi 3 x 3 cm a dôkladne premiešané s potrebným množstvom pomocného materiálu. Množstvo glycínu aplikované metódou plánovaného experimentu, ako aj spôsob konzervácie, skladovania a označenie vzoriek je na obr. 1. Rozpis plánu experimentu v kódovaných a v reálnych súradniciach je uvedená v tab. I.

I. Rozpis plánu experimentu podľa ROUCEKOP v kódovaných a reálnych súradniciach — Specification of the plan of experiment according to REUCEKOP in the coded and real coordinates

Číslo vzorky ¹	Faktory ²		Skladovanie (týždne) ³		Analyzované vzorky ⁴
	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂	
1	+1	+1	17	2,57	D
2	-1	+1	3	2,57	D
3	+1	-1	17	0,43	B
4	-1	-1	3	0,43	B
5	+1,414	0	20	1,50	C
6	-1,414	0	0	1,50	C
7	0	+1,414	10	3,00	E
8	0	-1,414	10	0	A
9-13	0	0	10	1,50	C

¹ number of sample; ² factor; ³ storage (weeks); ⁴ analyzed samples



¹ samples; ² glycine; ³ semiasseptic filling under the heat, closing up into the Omnia packing; ⁴ filling into the PE packings; ⁵ filling into the tins; ⁶ pasteurization; ⁷ sterilization; ⁸ fast cooling in water; ⁹ storage; ¹⁰ storage in the freezing plants

1. Rozpis prípravy vzoriek, spôsob konzervácie, skladovanie a ich označenie — Specification of sample preparation, the way of preservation, storage and their indication

Zmeny lipidov vzoriek sme sledovali stanovením čísla kyslosti, peroxidového a tiobarbiturového čísla. Výsledky našich analýz boli doplnené stanovením množstva vody a tuku.

Jednotlivé analytické ukazovatele sme stanovili týmito metódami:

- množstvo vody do konštantného úbytku hmotnosti a množstvo tuku extrakciou petroléterom (P r í b e l a , 1978),
- izoláciu lipidov použitím zmesi chloroform - metanol 2:1 (F o l c h et al., 1957),
- číslo kyslosti a peroxidové číslo titračnou metódou (P r í b e l a , 1978),
- tiobarbiturové číslo destilačnou metódou ako absorbanciu uvoľnených produktov s kyselinou tiobarbiturovou pri 538 nm (D a v í d e k et al., 1977).

Experimentálne získané hodnoty sledovaných charakteristík zmien lipidov sme spracovali počítačom EC 10 10 programom ROUCEKOP (K a f a r o v , 1978). Získali sme vrstevnicové diagramy a regresné rovnice, vyjadrujúce závislosť čísla kyslosti, peroxidového a tiobarbiturového čísla od zvolených parametrov – času skladovania a množstva pridanej aditívnej látky glycínu v tvare:

$$y = b_0 + b_1t + b_2c + b_{12}tc + b_{11}t^2 + b_{22}c^2$$

kde: t – čas skladovania

c – koncentrácia glycínu

b_n – regresné koeficienty

VÝSLEDKY a DISKUSIA

Množstvo vody a tuku sme stanovili v 0. a v 20. týždni skladovania. Priemerné množstvo vody sa vo vzorkách v priebehu skladovania pohybuje v rozpätí 70,97 až 78,84 % a množstvo tuku v rozpätí 2,70 až 5,77 %. Surové mäso obsahovalo 75,51 % vody a 1,58 % tuku (tab. II). Odchýlky v zastúpení množstva vody a tuku sú zapríčinené anatomicou lokalizáciou a náhodnými chybami, ktoré ovplyvňujú presnosť a správnosť výsledkov.

Stupeň zmien lipidov sme sledovali vo všetkých vzorkách pripravených kombináciou konzervačných metód v počiatočnej aj v konečnej fáze skladovania a na základe plánovaného experimentu vo vzorkách B a D aj v 3. a 17. týždni skladovania a vo vzorkách A a C aj v 10. týždni skladovania. Kontrolné vzorky (mrazené a sterilizované) sme analyzovali v počiatočnej a v konečnej fáze skladovania. Experimentálne údaje týchto analýz udávame v tab. II, do ktorej sme zaradili aj výsledky analýz vzoriek v 0. a 20. týždni skladovania, pripravených

II. Stanovenie množstva vody ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), tuku ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), čísla kyslosti - ČK ($\text{mg KOH} \cdot \text{g}^{-1}$), peroxidového čísla - PČ ($\mu\text{g O}_2 \cdot \text{g}^{-1}$) a tiobarbiturového čísla - TBČ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) sledovaných vzoriek v 0. a 20. týždni skladovania — The determination of the amount of water ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), fat ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), number of acidity - ČK ($\text{mg KOH} \cdot \text{g}^{-1}$), peroxide number - PČ ($\mu\text{g O}_2 \cdot \text{g}^{-1}$) and thiobarbiturate number - TBČ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) of the samples observed in the 0 to the 20th week of storage

Vzorka ¹	Skladovanie (týždne) ³	Voda ⁴	Tuk ⁵	ČK	PČ	TBČ
Surová ²	0	75,51	1,58	3,20	18,08	0,0230
A	0	76,40	3,43	4,34	48,52	0,1217
	20	76,69	3,31	3,98	45,29	0,0884
B	0	74,05	3,80	3,87	64,56	0,1705
	20	76,03	3,12	5,21	50,85	0,0945
C	0	70,97	5,77	3,62	52,68	0,1859
	20	72,68	3,41	2,86	48,82	0,0927
D	0	74,47	2,76	3,59	45,07	0,1076
	20	74,54	4,61	2,88	43,54	0,0906
E	0	71,88	3,91	3,56	37,49	0,1186
	20	75,08	4,11	5,47	42,26	0,0579
F	0	75,48	2,70	4,20	42,62	0,1942
	20	74,73	2,87	4,56	32,93	0,0915
G	0	77,18	2,42	3,66	25,04	0,0757
	20	78,84	2,46	7,24	20,55	0,0237

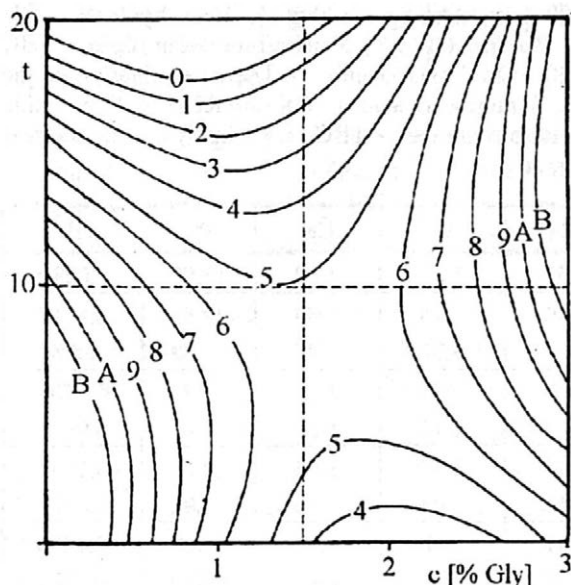
¹sample; ²raw; ³storage (weeks); ⁴water; ⁵fat

kombináciou konzervačných metód pre možnosť porovnania rozsahu zmien lipidov.

Spracovaním získaných výsledkov stanovenia čísla kyslosti, udávajúce stupeň hydrolytických zmien programom ROUCEKOP, sme získali vrstevnicový diagram (obr. 2) a regresnú rovnicu, vyjadrujúcu závislosť čísla kyslosti od času skladovania (t) a množstva pridaného glycinu (c) v tvare:

$$y_{\text{ČK}} = 4,91984 - 0,02078 t - 1,45640 c + 0,04975 t c - 0,00430 t^2 + 0,33988 c^2$$

Z vrstevnicového diagramu na obr. 2 vyplýva, že najvyššie množstvo voľných mastných kyselín (vrstevnica A, B) majú vzorky s prídavkom glycinu do 0,5 % (3. kvadrant) do 10,5. týždňa skladovania, pričom na základe priebehu vrstevníc vyplýva, že do 5. týždňa skladovania sa hodnota čísla kyslosti týchto vzoriek



ČK	Vrstevnica ¹
2,86000	0
3,00909	1
3,15818	2
3,30727	3
3,45636	4
3,60545	5
3,75455	6
3,90364	7
4,05273	8
4,20182	9
4,35091	A
4,50000	B

¹ contour line

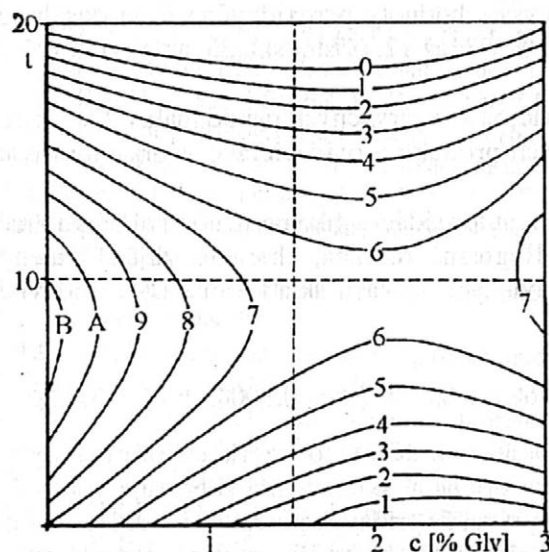
2. Vrstevnicový diagram hodnôt čísla kyselosti (mg KOH na g) vzoriek v závislosti od času skladovania (týždne) a prídavku glycínu — Contour diagram of acidity number values (mg KOH per g) the samples in dependence on the time of storage (weeks) and glycine addition

s časom nemení. Podobne najintenzívnejšie hydrolytické zmeny prebiehajú vo vzorkách s prídavkom glycínu 2,75 až 3,00 (1. až 4. kvadrant) v 6. až 20. týždni skladovania; od 11. týždňa skladovania sa hodnota čísla kyselosti vzoriek s týmto prídavkom glycínu prakticky nemení. Vzorka A, pripravená bez prídavku glycínu, má v počiatočnej fáze skladovania vyšší stupeň hydrolýzy ako vzorky s prídavkom tejto aminokyseliny a kontrolné vzorky. V priebehu celého skladovania bol vo všetkých vzorkách pripravených kombináciou konzervačných metód nižší stupeň hydrolytických zmien ako vo vzorke sterilizovanej a skladovanej 20 týždňov (tab. II).

Množstvo primárnych produktov autooxidácie sme stanovili peroxidovým číslom. Regresná rovnica, popisujúca zmeny hodnôt peroxidového čísla v závislosti od času skladovania (t) s prídavkom glycínu (c), má tvar:

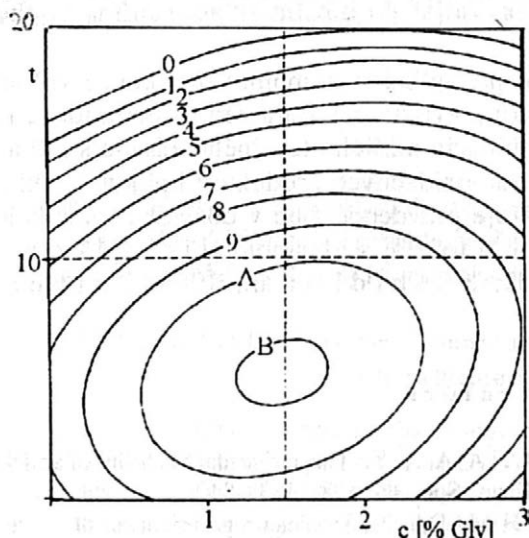
$$y_{PC} = 78,85751 + 4,78447 t - 25,40693 c + 0,52419 t c - 0,31668 t^2 + 4,89121 c^2$$

Z vrstevnicového diagramu (obr. 3) vyplýva, že najnižšie množstvo hydroperoxidov (vrstevnica 0) je vo vzorkách po 18. týždni skladovania, ale aj vo vzorkách s prídavkom glycínu 1,6 až 3,00 % v počiatočnej fáze skladovania



PČ	Vrstevnica
45,40000	0
50,06727	1
54,73455	2
59,40182	3
64,06909	4
68,73636	5
73,40364	6
78,07091	7
82,73818	8
87,40545	9
92,07273	A
96,74000	B

3. Vrstevnicový diagram hodnôt peroxidového čísla (μg kyslíka na g) vzoriek v závislosti od času skladovania (týždne) a prídavku glycínu — Contour sample of peroxide number values (μg of oxygene per gram) of the samples in dependence on the time (weeks) of storage and glycine addition



TBČ	Vrstevnica
0,09300	0
0,10145	1
0,10991	2
0,11836	3
0,12682	4
0,13527	5
0,14373	6
0,15218	7
0,16064	8
0,16909	9
0,17755	A
0,18600	B

4. Vrstevnicový diagram hodnôt tiobarbiturového čísla (mg malónďaldehydu na kg) vzoriek v závislosti od času skladovania (týždne) a prídavku glycínu — Contour diagram of thiobarbiturate number values (mg of malondialdehyde per kg) of the samples in dependence on the time of storage (weeks) and glycine addition

(vrstevnica 1 v 4. kvadrante). Najvyššie hodnoty peroxidového čísla dosahujú vzorky s prídavkom glycínu do 0,30 % v 3. až 12. týždni skladovania (vrstevnica A, B).

Všetky vzorky pripravené kombináciou konzervačných metód mali v 20. týždni skladovania vyššiu tvorbu primárnych produktov oxidácie ako vzorky mrazené a sterilizované (tab. II).

Množstvo sekundárnych produktov autooxidácie, hlavne malóndialdehyd sme stanovili tiobarbiturovým číslom. Regresná rovnica, charakterizujúca zmeny hodnoty tiobarbiturového čísla v závislosti od času skladovania (t) a prídavku glycínu (c) má tvar:

$$y_{TBC} = 0,16020 + 0,00310 t + 0,02568 c + 0,00097 t c - 0,00045 t^2 - 0,01043 c^2$$

Tvorbu sekundárnych produktov autooxidácie vo vzorkách pripravených kombináciou konzervačných metód v priebehu skladovania zobrazuje vrstevnicový diagram na obr. 4. Z obrázku vyplýva, že prídavok glycínu a čas skladovania vzoriek ovplyvňuje tvorbu malóndialdehydu. Najvyššia tvorba sekundárnych produktov je podmienená 1,2 až 1,8% prídavkom glycínu v 4. až v 6. týždni skladovania (vrstevnica B).

Z priebehu vrstevníc A a B vyplýva, že kratším skladovaním (do 10. týždňa) je množstvo malóndialdehydu vyššie, zatiaľ čo dlhším skladovaním sa jeho množstvo znižuje.

Z uvedeného prehľadu vyplýva, že pri aplikácii kombinovanej konzervačnej metódy je z hľadiska stability lipidov, vyjadrenej stanovením peroxidového a tiobarbiturového čísla, vhodná kombinácia nižšieho tepelného zásahu s 2,0 až 2,7% prídavkom glycínu. Množstvo autooxidačných produktov lipidov sa skladovaním vyšším ako 10 týždňov znižuje pravdepodobne v dôsledku interakcie týchto produktov s aminozlúčeninami, a teda aj s glycínom (J i r o u š k o v á, D a v í d e k, 1975; L i l l a r d, 1983; S h a h i d i et al., 1986; L u t h e r, M a r c u s, 1985).

Literatúra

- AHMAD, M. M. - AL-HAKIM, S. - SHEHATA, A. A. Y.: The antioxidant activity of amino acids in two vegetable oils. J. Amer. Oil Chem. Soc., 60, 1983 : 837-840.
 ANDO, Y. - KAMEYAMA, K. - KARASHIMADA, T.: Studies on germination of spores of *Clostridial* species capable of causing food poisoning (IX). Effect of glycine on the growth from spores of *Cl. botulinum*. J. Food Hyg. Soc. Japan., 16, 1975 : 258-263.
 DAVÍDEK, J. et al.: Laboratorní příručka analýzy potravin. Praha, SNTL 1977 : 718 s.

- 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.
- HAMMES, W. - SCHLEIFER, K. H. - KANDLER, O.: Mode of action of glycine on the biosynthesis of peptidoglycan. *J. Bacteriol.*, 116, 1973 : 1029-1053.
- JIROUŠKOVÁ, J. - DAVÍDEK, J.: Reaction of n-hexanal with glycine in model systems. *Z. Lebensm. -Unters. Forsch.*, 157, 1975 : 269-276.
- KAFAROV, V. V.: Kybernetické metody v chémii a v chemickéj technológii. Bratislava, Alfa 1987 : 460 s.
- KOMAGATA, K. et al.: Inhibitory effect of glycine on microorganisms. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 9, 1968, : 289-294.
- LILLARD, D. A.: Effect of processing on chemical and nutritional changes in food lipids. *J. Food Protect.*, 46, 1983 : 61-67.
- LUTHER, L. - MARCUS, K.: Nature of fluorescent compounds generated by exposure of protein to oxidizing lipids. *J. Food Biochem.*, 9, 1985 : 117-136.
- PRÍBELA, A.: Analýza prírodných látok v požívatinách. Bratislava, Alfa 1978 : 431 s.
- RODRIGUEZ-PALACIOS, F.: Natural antioxidants. *Technol. Alim.*, 19, 1984 : 10-28.
- SHAHIDI, F. et al.: Effect of sequestering agents on lipid oxidation in cooked meats. *Food Chem.*, 21, 1986 : 145-152.
- SHIBASAKI, I.: Food preservation with nontraditional antimicrobial agents. *J. Food Safety*, 4, 1982 : 35-58.
- TSUTSUMI, M. - OHOTAKA, F.: Antimicrobial action of glycine on *Salmonella typhimurium* in pickle. *Jap. J. Zootechn. Sci.*, 7, 1985 : 571-576.

Došlo dňa 18. 3. 1991

M. Takáčsová, S. Dudášová, B. Hozová, A. Rajniaková, I. Minarovičová
(Faculty of Chemical Technology of the Slovak Technical University
and Research Institute of Human Nutrition, Bratislava, Slovak Republic)

Changes in the lipids at use of combined method of food preservation with the glycine application

We focused on observation of lipid changes of the model samples of „Home-Made Beef Goulash“, which were preserved by combination of pasteurization in the course of 20 minutes and glycine addition. Preparation of the samples with various addition of amino acid glycine, storage time and number of particular analyses were determined by the method of planned experiment (Fig. 1). We compared changes in the lipids contained in these samples with the lipid changes in the samples, which were frozen and sterilized. The samples were prepared according to the ČSN 57 6099 with exclusion of the ingredients (Table I).

We observed the lipid changes by laying down the number of acidity, peroxide and thiobarbiturate numbers in the course of 20 weeks storage of the samples. We completed the results with setting the amount of water and fats.

Preparation of particular samples with glycine addition in the amount from 0 to 3 % and storage time were determined by two-factor plan of experiment according to ROUCEKOP. We obtained regression equations and contour diagrams (Fig. 2 to 4), giving dependence of the acidity number, peroxide and thiobarbiturate numbers on the following chosen parameters — storage time and percentage glycine addition.

It follows from the results of the lipid changes that they are conditional on the storage time and the glycine amino acid addition.

The degree of hydrolytic changes was in all the samples, prepared by combination of preservation methods in the course of the whole storage, lower than in the sterilized sample, stored for 20 weeks (Table II).

The amount of hydroperoxides is the highest in the samples with glycine addition in the amount of 0.30 % in the third to the 12th week of storage, while formation of primary products of self-oxidation decreases with the increasing amount of glycine added (Fig. 3).

Formation of secondary products for self-oxidation, mainly malondialdehyd, is the highest in the 4th and the 6th week of storage in the samples with the amount from 1.2 to 1.8 % glycine addition, with the increasing addition of glycine amino acid their number decreases.

It follows from the results obtained that from the point of view of lipid stability, expressed by setting the peroxide and thiobarbiturate numbers a combination of lower heat intervention with 2.0 to 2.7 % glycine addition is suitable.

beef; combined method of preservatin; pasteurization; glycine; fatty acids

STANOVENÍ 3-AMINO-1,2-PROPANDIOLU V HYDROLYZÁTECH BÍLKOVIN

Kateřina LEDAHUDCOVÁ, František KVASNIČKA, Jan VELÍŠEK

Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 3, 166 28 Praha

Pro stanovení 3-amino-1,2-propandiolu (produktu reakce 3-chlor-1,2-propandiolu s amoniakem) v bílkovinných hydrolyzátech byla vypracována metoda plynové chromatografie a metoda kapilární izotachoforézy. Metoda plynové chromatografie spočívala v extrakci vzorku hydrolyzátu methanolem, a separaci methanolového extraktu na sloupci silně kyselého katexu (eluze 0,2M kyselinou chlorovodíkovou). 3-amino-1,2-propandiol byl poté stanoven jako odpovídající triacetylderivát za použití křemenné kapilární kolony (30 m x 0,32 mm) smočené stacionární fází Supelcowax 10 a plamenového ionizačního detektoru. Při stanovení 3-amino-1,2-propandiolu metodou kapilární izotachoforézy byly zředěné vzorky hydrolyzátů analyzovány přímo za použití vodivostního detektoru na analytické kapiláře (90 x 0,3 mm) s předseparační kapilárou (90 x 0,8 mm). Vedoucím elektrolytem byl roztok 0,005M hydroxidu draselného s 0,025M TRIS a zakončujícím elektrolytem roztok 0,01M TRIS s 0,005M kyselinou chlorovodíkovou. Obě metody byly použity pro stanovení 3-amino-1,2-propandiolu ve dvaceti vzorcích tekutých, zahuštěných a sušených potravinářských hydrolyzátů bílkovin (korelační koeficient 0,472). Diskutovány jsou výhody a nevýhody obou použitých metod.

hydrolyzáty bílkovin; 3-chlor-1,2-propandiol; 3-amino-1,2-propandiol

V potravinářských bílkovinných hydrolyzátech byla během minulých asi deseti let zjištěna přítomnost několika, doposud v poživatinách neprokázaných, organických sloučenin chloru. Z hygienicko-toxikologického hlediska bylo nejzávažnější skutečností prokázání přítomnosti tzv. chlorhydrinů glycerolu, resp. chlorovaných propanolů (Velíšek et al., 1978, 1980, 1993). Hlavním endogenním kontaminantem hydrolyzátů bílkovin je běžně 3-chlor-1,2-propandiol, který vykazuje mutagenní a karcinogenní účinky (Šilhánková et al., 1982; van Duuren et al., 1974; Weisburger et al., 1981). Jeho koncentrace v tradičních bílkovinných hydrolyzátech se zpravidla pohybují v mezích 100 až 700 mg/kg (Velíšek et al., 1991a; van Bergen et al., 1991). V současné

době je v mnoha zemích určena maximální přípustná koncentrace 3-chlor-1,2-propandiolu v hydrolyzátech bílkovin na 10, resp. 1 mg/kg (van Bergen et al., 1991). Tohoto snížení obsahu 3-chlor-1,2-propandiolu lze dosáhnout mimo jiné i změnami v technologii výroby, např. zahříváním již hotového hydrolyzátu v slabě alkalickém prostředí. Za těchto podmínek, ale i během zrání a skladování hydrolyzátů vyrobených tradičním technologickým postupem reaguje 3-chlor-1,2-propandiol s některými ze složek hydrolyzátů.

Jednou z hlavních reakcí, ke které za uvedených podmínek dochází, je pravděpodobně reakce 3-chlor-1,2-propandiolu s aminosloučeninami, které jsou v hydrolyzátech přítomny v relativně velkém množství. Dusík aminokyselin např. představuje zhruba 50 % a amoniakový dusík asi 10 % z celkového obsahu dusíku hydrolyzátů, jehož množství bývá asi 3 % hmotnosti hydrolyzátů. Jako reakční produkty 3-chlor-1,2-propandiolu s aminokyselinami byly v hydrolyzátech bílkovin poprvé identifikovány tzv. glycerylaminokyseliny, tj. N-(2,3-dihydroxypropyl)aminokyseliny (Velíšek et al., 1991b). Reakcí 3-chlor-1,2-propandiolu s amoniakem vzniká v hydrolyzátech 3-amino-1,2-propandiol a další produkty (Velíšek et al., 1991c), které se v jiných poživatinách nevyskytují.

Cílem této práce bylo vypracovat vhodnou metodu pro stanovení 3-amino-1,2-propandiolu v bílkovinných hydrolyzátech. Vzhledem k tomu, že se tento amin (aminoalkohol) v jiných poživatinách než jsou potravinářské hydrolyzáty bílkovin nevyskytuje, jsou tyto metody jedinými dnes použitelnými metodami stanovení 3-amino-1,2-propandiolu (příp. jeho isomeru 2-amino-1,3-propandiolu).

MATERIÁL a METODY

Materiál a chemikálie – Bylo analyzováno 20 vzorků bílkovinných hydrolyzátů dodaných zahraničními výrobci a sójový hydrolyzát získaný z podniku Vitana Byšice.

Jako měnič iontů byl použit katex Dowex 50Wx4 (H⁺), 0,037-0,074 mm (Fluka AG, Buchs, Švýcarsko).

3-amino-1,2-propandiol a 2-amino-1,3-propandiol (serinol) byly výrobky firmy Aldrich-Chemie (USA). Pyridin byl výrobkem firmy Loba-Feinchemie (Rakousko) a acetonitril firmy VEB Jenapharm (Německo). Ostatní chemikálie byly výrobky podniku Lachema Brno, čistoty p.a.

Přístroje – Plynový chromatograf Hewlett-Packard 5890A (USA) vybavený plamenovým ionizačním detektorem; hmotnostní spektrometr Shimadzu QP-1000 (Japonsko); izotachoforetický analyzátor ZKI 02 (ČSFR) vybavený vodivostním detektorem.

Pracovní postupy a analytické metody

Stanovení 3-amino-1,2-propandiolu metodou plynové chromatografie – Do 100ml destilační baňky s kulatým dnem bylo odváženo 1,0 až 1,2 g tekutého hydrolyzátu (v případě past anebo prášků bylo naváženo 0,4 až 0,5 g, přidáno 0,5 ml vody a vzorek byl míchán dokud se nerozpustil) a obsah baňky byl odpařen při teplotě 40 °C za sníženého tlaku do sucha. Odparek byl extrahován třikrát 5 ml methanolu, jednotlivé extrakty byly zfiltrány a nerozpustný podíl na filtru byl promyt 5 ml methanolu. Filtrát byl nanesen na sloupec katexu ve vodíkovém cyklu o rozměrech 10 x 50 mm. Kolona byla eluována 50 ml methanolu a poté 50 ml 0,2M kyseliny chlorovodíkové. Eluát kyselinou chlorovodíkovou byl převeden do 100ml destilační baňky obsahující 1 ml roztoku vnitřního standardu (2-naftylamin) a obsah baňky byl odpařen do sucha za sníženého tlaku při teplotě 50 °C. Odparek byl derivatizován acetylací. Do baňky byl přidán 1 ml směsi pyridin-acetanhydrid (3 : 2, v/v) a roztok byl zahříván při teplotě 100 °C po dobu 20 minut. Poté byl přebytek činidla odstraněn jemným proudem dusíku v lázni o teplotě 60 °C. Odparek byl rozpuštěn ve 2 ml acetonitrilu a analyzován plynovou chromatografií.

Pro analýzu plynovou chromatografií byla použita křemenná kapilární kolona (30 m x 0,32 mm) smočená stacionární fází Supelcowax 10 (tloušťka filmu 0,25 µm). Teplota kolony byla programována od 80 do 250 °C s nárůstem 5 °C/min, teplota injektoru byla 220 °C, teplota detektoru 300 °C. Průtok nosného plynu (dusík) byl 5 ml/min, dělicí poměr 1 : 5. Objem nástriku byl 1 µl.

Vyhodnocení bylo provedeno technikou vnitřního standardu, metodou kalibrační křivky. Při jejím sestavení bylo postupováno následně: ze standardního roztoku 3-amino-1,2-propandiolu obsahujícího 0,15 mg látky v 1 ml byly pipetovány objemy 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 a 1,0 ml do sady 50ml destilačních baněk a byl přidán 1 ml roztoku vnitřního standardu (2-naftylamin) obsahující 0,15 mg látky. Obsah baněk byl odpařen do sucha a odparek byl derivatizován shora popsaným způsobem a poté analyzován plynovou chromatografií.

Kalibrační křivka byla sestavena jako závislost poměru plochy píku 3-amino-1,2-propandiolu ku ploše píku vnitřního standardu na koncentraci 3-amino-1,2-propandiolu, tj. $R = f(c)$, kde : R = poměr plochy píku 3-amino-1,2-propandiolu ku ploše píku vnitřního standardu, c = koncentrace 3-amino-1,2-propandiolu (mg).

K identifikaci 3-amino-1,2-propandiolu byl použit hmotnostní spektrometr Shimadzu QP-1000. Hmotnostní spektrum bylo změřeno po separaci příslušného acetylderivátu metodou plynové chromatografie na křemenné kapilární koloně (30 m x 0,32 mm) smočené stacionární fází Supelcowax 10 (tloušťka filmu 0,25 µm). Energie ionizujících elektronů byla 70 eV, teplota iontového zdroje 275 °C, teplota separátoru 270 °C.

Stanovení 3-amino-1,2-propandiolu metodou kapilární izotachoforézy – Do 100ml odměrné baňky byl odvážen 1 g kapalného nebo 0.5 g pevného vzorku, odvážené množství bylo rozpuštěno v malém množství vody a poté byla baňka doplněna po značku vodou. Takto získaný roztok byl přímo analyzován.

Izotachoforetická analýza byla prováděna za použití analytické kapiláry (90 x 0,3 mm) spojené s předseparační kapilárou (90 x 0,8 mm). Hnací proud na předseparační kapiláře byl 200 μ A, na analytické kapiláře 40 μ A, během detekce snížený na 10 μ A. Jako vedoucí elektrolyt byl použit roztok obsahující 0,005M hydroxid draselný a 0,025M TRIS, jako zakončující elektrolyt byl použit roztok obsahující 0,01M TRIS a 0,005M kyselinu chlorovodíkovou. Vzorek byl dávkován pomocí smyčky o objemu 30 μ l.

Vyhodnocení bylo provedeno metodou kalibrační křivky, sestavené následujícím způsobem: ze zásobních roztoků obsahujících 1260 mg 3-amino-1,2-propandiolu v 1000 ml, resp. 1010 mg 2-amino-1,3-propandiolu v 1000 ml, byly vhodným ředěním připraveny roztoky o koncentraci stanovovaných látek 1 až 15 mg v 1000 ml. Ze získaných kalibračních dat byla vyhodnocena závislost délky vlny složky na její koncentraci.

VÝSLEDKY a DISKUSE

Samotnému stanovení 3-amino-1,2-propandiolu metodou plynové chromatografie musela předcházet izolace sloučeniny ze vzorku hydrolyzátu. Odparek hydrolyzátu byl extrahován methanolem, methanolvý extrakt byl nanesen na kolonu silně kyselého katexu a eluován methanolem a poté 0,2M kyselinou chlorovodíkovou. 3-amino-1,2-propandiol byl přítomen v eluátu kyselinou chlorovodíkovou. Uvedeným izolačním postupem se částečně odstraní chlorid sodný (jeho obsah v hydrolyzátech bílkovin je až 20 % hmotnosti hydrolyzátu), amino-kyseliny a další látky rušící stanovení.

3-amino-1,2-propandiol byl poté analyzován ve formě triacylderivátu plynovou chromatografií. Za podmínek používaných v této práci byl retenční čas tris(acetylderivátu) 28,7 minut. Jako vnitřní standard byl používán 2-naftylamin, jehož retenční čas byl 45,8 minut.

Opakovatelnost stanovení 3-amino-1,2-propandiolu metodou plynové chromatografie byla testována analýzou šesti paralelních vzorků sójového hydrolyzátu (Vitana Byšice). Výsledky stanovení jsou uvedeny v tab. I. Relativně vyšší hodnota variačního koeficientu (12,9 %) byla pravděpodobně zapříčiněna množstvím operací, které samotnému stanovení předcházejí. Navíc se jedná o sloučeninu přítomnou v malém množství v pestré směsi látek podobných vlastností.

Výtěžnost metody byla testována na vzorku výše uvedeného hydrolyzátu, který obsahoval 66 mg 3-amino-1,2-propandiolu v 1 kg. Výsledky jsou uvedeny v tab. II jako průměrné hodnoty šesti paralelních stanovení. Při analýze vzorků obsahujících v průměru 209 mg 3-amino-1,2-propandiolu v 1 kg bylo nalezeno 172 mg/kg, tj. 82,1 % přítomného množství látky.

I. Obsah 3-amino-1,2-propandiolu v sójovém hydrolyzátu stanovený metodou plynové chromatografie — Determination of 3-amino-1,2-propanediol in soybean meal hydrolysate by GLC method

Číslo měření ¹	Obsah 3-amino-1,2-propandiolu ² [mg · kg ⁻¹]
1	65
2	57
3	81
4	56
5	67
6	73
Průměr ³	66
Směrodatná odchylka ⁴	8,6
Variační koeficient ⁵ [%]	12,9

¹measurement no.; ²content of 3-amino-1,2-propanediol; ³mean; ⁴standard deviation; ⁵coefficient of variation

Přítomnost 3-amino-1,2-propandiolu ve vzorku sójového hydrolyzátu byla potvrzena metodou plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie. Hmotnostní spektrum standardu (3-amino-1,2-propandiol, triacetát), totožné se spektrem analyzované látky, je uvedeno v tab. III (V e l í š e k et al., 1991c).

II. Výtěžnost 3-amino-1,2-propandiolu ze sójového hydrolyzátu při stanovení metodou plynové chromatografie — Recovery of 3-amino-1,2-propanediol from soybean meal hydrolysate by GLC method

Obsah 3-amino-1,2-propandiolu ¹ [mg · kg ⁻¹]			Výtěžnost ²
Původní vzorek ³	přidáno ⁴	nalezeno ⁵	
66	143	172	82,1

Směrodatná odchylka - standard deviation = 43,9

Variační koeficient - coefficient of variation = 25,5 %

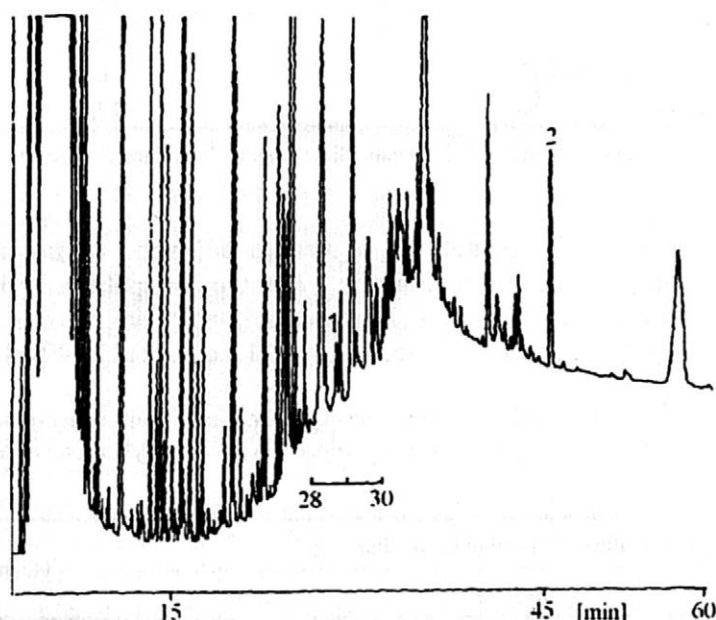
¹content of 3-amino-1,2-propanediol; ²recovery; ³original sample; ⁴added; ⁵determination

III. Hmotnostní spektrum acetylovaného 3-amino-1,2-propandiolu — Mass spectrum of acetylated 3-amino-1,2-propanediol

Molekulová hmotnost ¹	Hmotnostní spektrum ² , m/z [%]
217	15 (9,8), 114 (6,6), 73 (12,6), 72 (17,5), 60 (7,8), 56 (6,9), 45 (5,1), 44 (5,0), 43 (100), 30 (65,9)

¹molecular weight; ²mass spectrum

Vypracovaná metoda stanovení 3-amino-1,2-propandiolu byla ověřena analýzou dvaceti vzorků bílkovinných hydrolyzátů dodaných zahraničními výrobci. Byla prováděna vždy dvě paralelní stanovení každého vzorku. Výsledky stanovení jsou shrnuty v tab. IV, příklady získaných chromatogramů jsou uvedeny na obr. 1 a 2. Ze získaných výsledků je zřejmé, že koncentrace 3-amino-1,2-propandiolu v analyzovaných hydrolyzátech se významně neliší a pohybují se v rozmezí od 11 do 35 mg/kg.



Holds for Figs. 1 and 2:

1 = 3-amino-1,2-propandiol, 2 = 2-naftylamin (vnitřní standard — internal standard)

1. Stanovení 3-amino-1,2-propandiolu ve vzorku hydrolyzátu č. 18 metodou plynové chromatografie — Determination of 3-amino-1,2-propanediol in sample No. 18 by GLC method

IV. Stanovení 3-amino-1,2-propandiolu v bílkovinných hydrolyzátech metodou plynové chromatografie — GLC determination of 3-amino-1,2-propanediol in HVPs

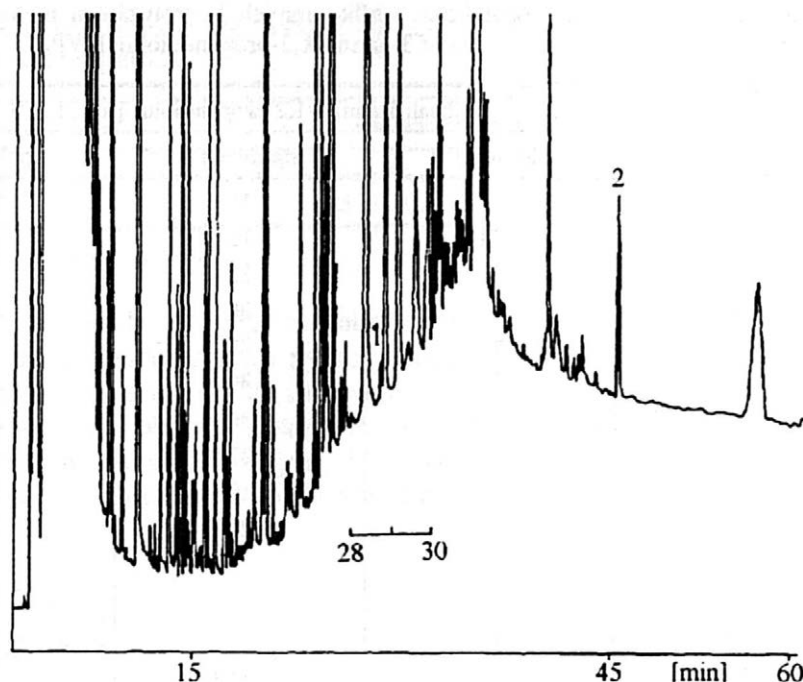
Vzorek č. ¹	Obsah 3-amino-1,2-propandiolu ² [mg . kg ⁻¹]		
	stanovení ³ 1	stanovení 2	průměr ⁴
1	-	18	18
2	11	13	12
3	13	13	13
4	28	30	29
5	16	20	18
6	31	30	30
7	34	36	35
8	31	33	32
9	11	10	11
10	23	24	24
11	23	-	23
12	20	21	21
13	13	20	17
14	22	18	20
15	21	13	17
16	17	15	16
17	12	9	11
18	22	22	22
19	18	13	16
20	20	15	18

s = 2,53

¹sample no.; ²content of 3-amino-1,2-propanediol; ³determination; ⁴mean

Paralelně s metodou plynové chromatografie byla rovněž studována možnost stanovení 3-amino-1,2-propandiolu jiným způsobem. Vzhledem k fyzikálně-chemickým vlastnostem daného analytu a k chemickému složení analyzovaných vzorků byla dále testována možnost stanovení metodou kapilární izotachoforézy.

Při stanovení 3-amino-1,2-propandiolu metodou kapilární izotachoforézy nebylo třeba sledovanou látku izolovat. Vzorek hydrolyzátu byl pouze vhodným způsobem ředěn. Při nízkých koncentracích 3-amino-1,2-propandiolu bylo však jeho stanovení rušeno sodnými ionty, takže minimální detegovatelné množství 3-amino-1,2-propandiolu bylo zhruba 5 mg/kg.



2. Stanovení 3-amino-1,2-propandioli ve vzorku hydrolyzátu č. 9 metodou plynové chromatografie
— Determination of 3-amino-1,2-propanediol in sample No. 9 by GLC method

Při vypracování metody kapilární izotachografie bylo postupováno podobně jako při metodě plynové chromatografie. Opakovatelnost stanovení 3-amino-1,2-propandioli metodou kapilární izotachografie však v tomto případě byla testována analýzou pěti paralelních vzorků zahraničního hydrolyzátu Liebex 30. Ke stanovení nebyl použit sójový hydrolyzát (Vitana) jako v případě testování metody plynové chromatografie, neboť množství 3-amino-1,2-propandioli stanovené v tomto hydrolyzátu metodou kapilární izotachografie bylo pouze 11 mg/kg. Stanovení tak nízkého obsahu by bylo zatíženo značnou chybou. Výsledky stanovení opakovatelnosti jsou uvedeny v tab. V. Hodnota variačního koeficientu (12,0 %) je srovnatelná s hodnotou variačního koeficientu metody plynové chromatografie (12,9 %, tab. I).

Výtěžnost izotachoretické metody byla testována na vzorku výše uvedeného hydrolyzátu, který obsahoval 69 mg 3-amino-1,2-propandioli v 1 kg. Výsledky jsou uvedeny v tab. VI jako průměrné hodnoty z pěti paralelních stanovení. Vzorky obsahovaly průměrně 169 mg 3-amino-1,2-propandioli v 1 kg, nalezeno bylo 147 mg/kg, tj. 87,0 % skutečného obsahu. Získané výsledky jsou srovnatelné s výsledky získanými metodou plynové chromatografie (82,1 %).

V. Stanovení 3-amino-1,2-propandiolu v hydrolyzátu Liebex 30 metodou kapilární izotachoforézy — Determination of 3-amino-1,2-propanediol in hydrolysate Liebex 30 by isotachophoretic method

Číslo měření ¹	Obsah 3-amino-1,2-propandiolu ² [mg . kg ⁻¹]
1	69
2	61
3	77
4	60
5	77

¹measurement no.; ²content of 3-amino-1,2-propanediol

VI. Výtěžnost 3-amino-1,2-propandiolu z hydrolyzátu Liebex 30 při stanovení metodou kapilární izotachoforézy — Recovery of 3-amino-1,2-propanediol from hydrolysate Liebex 30 by isotachophoretic method

Obsah 3-amino-1,2-propandiolu ¹ [mg . kg ⁻¹]			Výtěžnost ² [%]
Původní vzorek ³	přidáno ⁴	nalezeno ⁵	
69	100	147	87,0

For 1-5 see Table II

Metoda kapilární izotachoforézy byla rovněž ověřena analýzou dvaceti vzorků bílkovinných hydrolyzátnů. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tab. VII, pro srovnání jsou uvedeny také výsledky získané analýzou vzorků metodou plynové chromatografie.

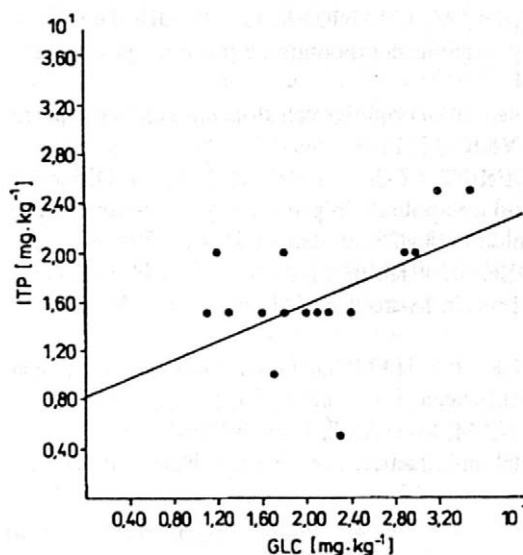
Výsledkům obou metod odpovídal korelační koeficient $r = 0,472$, tedy pouze s pravděpodobností 47,2 % existuje mezi metodami lineární závislost, jejíž rovnice je $ITP = 0,374 \text{ GLC} + 8,274$, kde ITP = hodnoty získané metodou kapilární izotachoforézy, GLC = hodnoty získané metodou plynové chromatografie (obr. 3). Z uvedených rovnic (uvedených výsledků) vyplývá, že shoda mezi obsahy 3-amino-1,2-propandiolu stanovenými metodou plynové chromatografie a metodou kapilární izotachoforézy není příliš dobrá, což je pravděpodobně způsobeno zcela odlišným principem obou metod.

VII. Porovnání obsahů 3-amino-1,2-propandiolu v bílkovinných hydrolyzátech stanovených metodou izotachoforetické analýzy a plynové chromatografie — Comparison of 3-amino-1,2—propanediol amounts determined by isotachophoretic and GLC method

Vzorek č. ¹	Obsah 3-amino-1,2-propandiolu ² [mg . kg ⁻¹]	
	ITP	GLC
1	20	18
2	20	12
3	15	13
4	20	29
5	15	18
6	20	30
7	25	35
8	25	32
9	15	11
10	15	24
11	5	23
12	15	21
13	10	17
14	15	20
15	10	17
16	15	16
17	15	11
18	15	22
19	15	16
20	20	18

¹ measurement no.; ² content of 3-amino-1,2-propanediol

V porovnání s metodou kapilární izotachoforézy umožňuje metoda plynové chromatografie stanovit nižší koncentrace 3-amino-1,2-propandiolu v bílkovinných hydrolyzátech. Minimální stanovitelné množství 3-amino-1,2-propandiolu v hydrolyzátech metodou plynové chromatografie je 1 mg/kg, metodou kapilární izotachoforézy lze stanovit minimální obsah 3-amino-1,2-propandiolu 5 mg/kg. Výhodou metody kapilární izotachoforézy je nesrovnatelně nižší pracnost a časová náročnost, což nejlépe vyjadřuje doba analýzy dvou paralelních vzorků (včetně přípravy vzorků). U metody kapilární izotachoforézy je tato doba asi 20 minut až jedna hodina, u metody plynové chromatografie přibližně 10 hodin.



$$ITP = 0,374 GLC + 8,724$$

$$r = 0,472$$

ITP = hodnoty získané metodou kapilární izotachofórey — values obtained by ITP method

GLC = hodnoty získané metodou plynové chromatografie — values obtained by GLC method

3. Korelace mezi metodami plynové chromatografie a kapilární izotachofórey — Correlation between GLC and ITP methods

Při reakci 3-chlor-1,2-propandiolu s amoniakem vzniká jako minoritní produkt také isomer 3-amino-1,2-propandiolu, 2-amino-1,3-propandiol. Jeho přítomnost v koncentracích nižších než 5 mg/kg byla zjištěna při analýze uvedených vzorků metodou kapilární izotachofórey. Při analýze vzorků metodou plynové chromatografie nebyl 2-amino-1,3-propandiol identifikován, neboť jeho stanovení bylo rušeno jinými látkami přítomnými v analyzovaných vzorcích.

Literatura

- ŠILHÁNKOVÁ, L. - ŠMÍD, F. - ČERNÁ, M. - DAVÍDEK, J. - VELÍŠEK, J.: Mutagenicity of glycerol chlorohydrins and of their esters with higher fatty acids present in protein hydrolysates. *Mutation Res.*, 103, 1982 : 77-81.
- BERGEN, C. A., van - COLLIER, P. D. - CROMIE, D. D. C. - LUCAS, R. A. - PRESTON, H. D. - Sissons, D. J.: The determination of chloropropanols in protein hydrolysates. *J. Chromatogr.*, 589, 1992 : 109-115.
- DUUREN, B. L., van - GOLDSCHMIDT, B. L. - KATZ, C. - SEIDMAN, I. - PAUL, J. S.: Carcinogenic activity of alkylating agents. *J. Natl. Cancer Inst.*, 53, 1974 : 695-700.
- VELÍŠEK, J. - DAVÍDEK, J. - HAJŠLOVÁ, J. - KUBELKA, V. - JANÍČEK, G. - MÁNKOVÁ, B.: Chlorohydrins in protein hydrolysates. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 167, 1978 : 241-244.

VELÍŠEK, J. - DAVÍDEK, J. - KUBELKA, V. - JANÍČEK, G. - SVOBODOVÁ, Z. - ŠIMICOVÁ, Z.: New chlorine-containing organic compounds in protein hydrolysates. J. Agric. Food Chem., 28, 1980 : 1142-1144.

VELÍŠEK, J. - LEDAHUDCOVÁ, K.: Problematika organických sloučenin chloru v potravinářských hydrolyzátech bílkovin. Potrav. Vědy, 11, 1993 : 149-159.

VELÍŠEK, J. - DAVÍDEK, J. - DAVÍDEK, T. - LEDAHUDCOVÁ, K. - DOLEŽAL, M.: 3-Chloro-1,2-propanediol derived amino compounds in protein hydrolysates. Proc. Euro Food Chem. VI, Hamburg, Deutschland, 23 - 26 September 1991a : 596-601.

VELÍŠEK, J. - DAVÍDEK, T. - DAVÍDEK, J. - KUBELKA, V. - VÍDEN, I.: 3-Chloro-1,2-propanediol derived amino acids in protein hydrolysates. J. Food Sci., 56, 1991b : 139-142.

VELÍŠEK, J. - DAVÍDEK, T. - DAVÍDEK, J. - HAMBURG, A.: 3-Chloro-1,2-propanediol derived amino alcohol in protein hydrolysates. J. Food Sci., 56, 1991c : 136-138.

WEISBURGER, E. K. - ULLAND, B. M. - NAM, J. - GART, J. J. - WEISBURGER, J. H.: Carcinogenicity tests of certain environmental and industrial chemicals. J. Natl. Cancer Inst., 67, 1981 : 75-88.

Došlo dne 6. 11. 1991

K. Ledahudcová, F. Kvasnička, J. Velíšek (Institute of Chemical Technology, Praha, Czech Republic)

Determination of 3-amino-1,2-propanediol in protein hydrolysates

During the last ten years many chlorine-containing organic compounds have been identified in food protein hydrolysates that are produced by hydrochloric acid hydrolysis. Toxic 3-chloro-1,2-propanediol having mutagenic and carcinogenic properties has been identified as the main endogenous contaminant. Its levels in classical protein hydrolysates currently reach several hundreds of mg/kg. The nowadays produced hydrolysates accepted by the state supervisory bodies in many countries contain less than 10 or 1 mg/kg of 3-chloro-1,2-propanediol. These relatively low levels of 3-chloro-1,2-propanediol can be achieved by additional chemical treatment of hydrolysates in alkaline medium.

One of the main reactions of 3-chloro-1,2-propanediol, taking place during the alkaline treatment of hydrolysates, is probably its reaction with amino compounds (ammonia or ammonium salts, amino acids, etc.). 3-Amino-1,2-propanediol and other products that have not been found in other foods have been identified as reaction products of 3-chloro-1,2-propanediol with ammonia in protein hydrolysates.

The objective of our study was to work up a suitable method for determination of 3-amino-1,2-propanediol in liquid protein hydrolysates as well as in pastes and powders. Due to the chemical and physical properties of the analysed compounds and the chemical composition of protein hydrolysates two different methods were developed, i.e. gas chromatographic method (GLC) and isotachophoretic method (ITP).

The GLC method included the extraction of a hydrolysate sample with methanol and separation of methanolic extract on a cation-exchanger column (elution with methanol and 0.2M hydrochloric acid). The isolated 3-amino-1,2-propanediol was then analysed as its corresponding trisacetyl derivative using a fused silica capillary column (30 m x 0.32 mm) with a Supelcowax 10 stationary phase (film thickness 0.25 μ m) and a flame-ionization detector. Repeatability of the method was tested on a sample of soybean meal hydrolysate (Vitana Byšice, CR) and the coefficient of variance of 12.9 % was found. Recovery of the method tested on the above mentioned hydrolysate (the content of 3-amino-1,2-propanediol being 66 mg/kg) was 82.1 %. The presence of 3-amino-1,2-propanediol in the sample was confirmed by gas chromatography/mass spectrometry. The GLC method was verified by analysis of twenty samples of protein hydrolysates obtained from various producers. 3-Amino-1,2-propanediol was present at concentrations ranging from 11 mg/kg to 35 mg/kg.

Determining 3-amino-1,2-propanediol by the isotachophoretic method, the dilute samples of hydrolysates were analysed directly using a conductivity detector and an analytic capillary (90 x 0.3 mm) with a pre-separation capillary (90 x 0.8 mm). Potassium hydroxide (0.005M) with 0.025M TRIS was used as a leading electrolyte and 0.01M TRIS with 0.005M hydrochloric acid was used as a terminating electrolyte. Repeatability of the method was tested on a sample of hydrolysate Liebig 30 obtained from Liebig Benelux SA and the coefficient of variance was 12.0 %. Recovery of the tested method using the above mentioned hydrolysate (the aminopropanediol content of 69 mg/kg) was 87.0 %. The achieved results are comparable with those obtained by the GLC method.

The ITP method was also verified by analysis of twenty samples of protein hydrolysates. Coefficient of correlation corresponding to the results obtained by the GLC method and the ITP method was 0.472. This low value of correlation was probably caused by the different character of the methods.

The minimal amount of 3-amino-1,2-propanediol detectable by the ITP method was 5 mg/kg, whereas by the GLC method it was possible to detect 1 mg/kg of 3-amino-1,2-propanediol. But the ITP method was less laborious and tedious. The time of analysis of two parallel samples (including the preparation of samples) ranged from 20 minutes to 1 hour for the ITP method, and 10 hours for the GLC method.

protein hydrolysates; 3-chlor-1,2-propanediol; 3-amino-1,2-propanediol

RECENZE

POISONOUS PLANT CONTAMINATION OF EDIBLE PLANTS

TOXICKÉ LÁTKY V ROSTLINNÝCH POTRAVINÁCH A KRMIVECH

Abdel-Fattah M. Rizk (Ed.)

Boca Raton, Florida, CRC Press 1991, 183 s.

Ve vyspělých zemích se stále častěji ozývá názor, že přirozené toxické a antinutriční látky potravin a krmiv jsou svými důsledky závažnější než cizorodé látky kontaminující. Výzkum těchto především rostlinných složek je velice rozsáhlý. Reaguje mj. na rostoucí zastoupení rostlinné potravy, a to často i netradičního charakteru, v početných skupinách populace.

Mezi souhrnné publikace, které zachycují rychle se rozvíjející poznání, patří i kniha, jejímž autorem je A.-F. M. Rizk, profesor univerzity v Kataru. V sedmi kapitolách, napsaných deseti autory ze sedmi zemí, poskytuje přehled o chemii, biochemii, toxikologii i dalších vlastnostech některých toxických látek. Jak je u knih tohoto charakteru obvyklé, jsou kapitoly členěny buď podle chemické podstaty látek, nebo podle jejich biologických účinků. Prolínají se údaje o působení na člověka a hospodářská zvířata.

Výživy a ochrany zdraví lidí se týkají čtyři kapitoly. Nejrozsáhlejší se zabývá velmi podrobně glykoalkaloidy brambor. Dostatečně jsou zpracovány pasáže shrnující poznatky o nárůstu obsahu alkaloidů vlivem poškození a osvětlení hlíz a o změnách během skladování. Důsledkům technologických a kuchyňských úprav je věnováno méně pozornosti. Dobrou úroveň má kapitola o kyanogenních glykosidech a glukosinolátech; jsou však již k dispozici podrobnější souborné referáty.

U nás zatím okrajovou záležitostí jsou pyrrolizidinové alkaloidy, které mj. narušují metabolismus vitamínu A, proteosyntézu v játrech a jsou i přirozenými karcinogeny. Vyskytují se v několika rostlinách, z nichž je nejzávažnější kostival lékařský. Přecházejí však i do některých potravin živočišného původu - masa, mléka, vajec či medu. Cenné ucelené informace poskytuje kapitola o přirozených karcinogenech, které se vyskytují v řadě rostlin a jsou chemicky značně různorodé. Především z těchto dvou kapitol vyplývá varování před nekontrolovaným prodejem a požíváním různých čajů, pochutin, redukčních směsí apod. nejasného složení, protože častý příjem větších množství by mohl vést k poškození zdraví.

Zbývající tři kapitoly se týkají ochrany zdraví zvířat. Zahrnují toxické látky v čeledi prýsčovitě a vrabečnicovitě a v rodech jilek a komonice.

Každá kapitola je ukončena přehledem citovaných prací - např. část o glykoalkaloidech brambor uvádí 182 odkazů. Knihu lze doporučit jako hodnotný zdroj informací uživatelům z úseků zpracování a kontroly potravin, hygienické služby a výživového poradenství, ale také pracovníkům ve šlechtění rostlin.

Doc. ing. Pavel Kaláč, CSc.,

HODNOCENÍ METOD STANOVENÍ POČTU PSYCHROTROFNÍCH BAKTÉRIÍ V SYROVÉM MLÉČE

EVA URBANOVÁ

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

Byly testovány metodiky stanovení počtu psychrotrofních kontaminant v syrovém mléce. Jako nejvhodnější ze tří zkoušených ředících médií byl vybrán sterilní fyziologický roztok (pH 7,2), z šesti pevných kultivačních půd masopeptonový agar s 1 % glukosy. Pro urychlení testace byla ověřena kultivace při pokojové teplotě a doba inkubace tři dny proti klasické kultivaci (7 °C po 10 dní). Byly stanoveny míry korelace mezi výsledky získanými na testovaných médiích u obou kultivačních režimů, které signifikantně prokázaly optimálnost stanovení úrovně psychrotrofních kontaminant na masopeptonovém agaru s 1 % glukosy inkubovaném při pokojové teplotě tři dny.

ředící médium; pevná testační půda; kultivační režim; míra korelace

Pro stanovení psychrotrofní mikroflóry v mléce a mléčných výrobcích, ale i v ostatních potravinách jsou používány různé metodiky. Jak uvádí Reinbold (1983), testů k hodnocení počtů psychrotrofních kontaminant je hodně, ale jejich nevýhodou je, že vyžadují poměrně dlouhé kultivační doby a většinou jsou specifické jen pro určitou surovinu či potravinu. Standardní metodiku neuvádí např. ani Refai (1979), ani Compendium of Analytical Methods of Foods (1989). Podle standardních mezinárodních mlékařských norem se používá Plate Count Agar (PCA) a kultivace při 5 až 7 °C po 7 až 10 dní (Witter, 1961). O zkrácení doby kultivace se pokusila řada autorů. Juffs (1970) popsal dvě metody, používající předinkubace vzorků ke zkrácení následné kultivační doby. Oliveria, Parmelle (1976) doporučili pro testaci syrového a pasteurizovaného mléka kultivaci při teplotě 21 °C po 25 h, obdobně jako Griffiths et al. (1984), Phillips et al. (1984) a další.

Ani v našich normách či literatuře není konkrétně vymezena metoda stanovení psychrotrofních mikroorganismů v mléce a ostatních potravinách živočišného původu. Přestože ČSN 57 0529 vymezuje jako jedno z kritérií pro zařazení mléka do výběrové jakostní třídy i počet psychrotrofních kontaminant, není uvedena metoda jejich stanovení v ČSN 57 0101. V ČSN 56 0100 je uvedeno stanovení počtu psychrofilních mikrobů (čl. 75), prováděné jako u stanovení mezofilních bakterií pouze s rozdílem v kultivační teplotě (15 °C). Metodicky přesné stanovení

psychrotrofních mikroorganismů neuvádí ani H o l e c (1983). M i k a l o v á (1982) studovala a ověřovala několik metod pro kultivaci psychrotrofní mikroflóry z potravin. Jako nejvhodnější doporučila kultivaci při 20 až 23 °C po dva až tři dny. V současné době, pokud se provádí v centrálních, zemědělských, resp. podnikových mlékárenských laboratorních stanovení počtu psychrotrofních mikroorganismů, jsou používány rozdílné metody i metodiky od různých autorů, případně oborové normy (ON) daného závodu. Výsledky jsou diametrálně odlišné a tedy nespolehlivé.

Značné diskrepance u uváděných metod se vyskytují nejen v teplotě kultivace a její délce, ale i v použitém ředicím médiu a pevné testační půdě. A právě na tyto problémy je zaměřena tato práce.

MATERIÁL a METODY

Metodika byla optimalizována na vzorcích rekonstituovaného a syrového mléka. Vzorky rekonstituovaného mléka byly kontaminovány známým množstvím sbírkových kmenů: *Pseudomonas fluorescens* CCM 2115; *Pseudomonas fluorescens* CCM 2826; *Bacillus psychrophilus* CCM 2117; *Arthrobacter globiformis* CCM 1650. Bylo testováno syrové mléko od jednotlivých dojnic, směsné vzorky z úchovných nádrží a svozových cisteren. Byla testována ředicí média: sterilní destilovaná voda (pH 7,0); fyziologický roztok (pH 7,2); Butterfieldův roztok (pH 7,2) a pevné kultivační půdy: masopeptonový agar (MPA) s 1 % glukosy; masopeptonový agar s 1 % laktosy; King B agar (K i n g et al., 1954); *Pseudomonas* F agar (Imuna); TSA připravený z Tryptone Soya Broth (OXOID) + 15,0 agaru v 1 l destilované vody; TSA + 1 % kvasničného extraktu. Kultivační podmínky: pokojová teplota (PT) po tři dny a 7 °C po 10 dní.

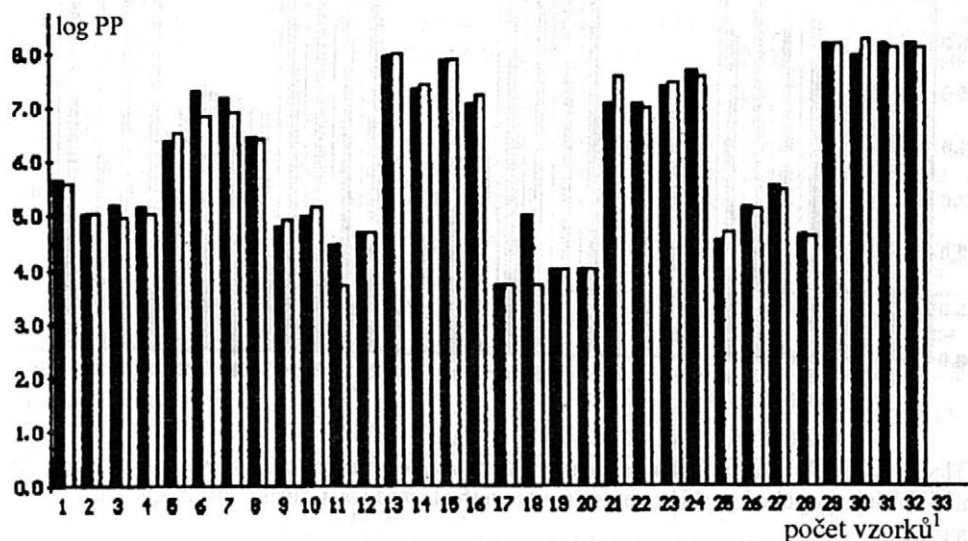
Byl stanoven korelační koeficient (r) jako míra korelace mezi výsledky testovaných metod.

VÝSLEDKY a DISKUSE

Celkem u 16 vzorků rekonstituovaného mléka o známé úrovni kontaminace a čtyř vzorků syrového mléka byla provedena testace tří ředicích médií. Neoptimálnější výsledky byly získány při ředění vzorků sterilním fyziologickým roztokem (pH 7,2). Sbírkové bakterie ve vzorcích rekonstituovaného mléka byly při ředění sterilní destilovanou vodou zcela nebo částečně inhibovány, výrazná inhibice počtu kontaminant se projevila i ve vzorcích syrového mléka. Tento výsledek bylo možné předpokládat, neboť toxický vliv destilované vody k psychrotrofním kontaminantům dokumentuje i W i t t e r (1961). V novelizované ČSN 56 0080,

ani v ČSN 56 0100 (čl. 75) není ředící médium přesně vymezeno, což lze považovat za závažný nedostatek. Mírná inhibice sbírkových kmenů se projevila i za použití Butterfieldova média při ředění rekonstituovaného mléka, u syrového mléka však nebyla pozorována.

Dále bylo testováno šest pevných kultivačních půd doporučených literaturou pro počítání psychrotrofních mikroorganismů. Bylo testováno 16 vzorků rekonstituovaného mléka o známé úrovni sbírkových kontaminantů a čtyři vzorky syrového mléka na MPA s glukosou, King B agar, *Pseudomonas* F agar, TSA a TSA s kvasničním extraktem. Významné rozdíly v počtu psychrotrofních kontaminantů nebyly pozorovány ani při testaci v pokojové teplotě (PT), ani při 7 °C. Do dalších pokusů byl vybrán jako kultivační médium MPA s glukosou. Výběr byl proveden s ohledem na to, že i v zahraničí se v mlékařských metodikách využívá k počítání mikroorganismů PCA (OXOID) s 1% obsahem glukosy. Mimoto, např. u *Pseudomonas* F agaru bylo mírně ztíženo počítání kolonií jejich hlenovitým vzhledem



Platí pro obr. 1 a 2 – Holds for Figs. 1 and 2

■ MPA s glukosou - MPA with glucose; □ MPA s laktosou - MPA with lactose

PP = počet psychrotrofních bakterií - number of psychrotrophic bacteria;

¹number of samples

1. Hodnoty psychrotrofních kontaminantů na testovaných půdách při kultivaci při pokojové teplotě po tři dny — Values of psychrotrophic contaminants on the tested soils during cultivation at the room temperature over three days

a částečným splýváním, u King B agaru pak vadila v některých případech výrazná pigmentace kolonií i půdy.

V další části práce bylo testováno šest vzorků rekonstituovaného mléka kontaminovaného sbírkovými kmeny *Pseudomonas fluorescens* CCM 2115 a CCM 2826 a 34 vzorků syrového mléka na MPA s glukosou při dvou inkubačních režimech (PT/3 dny a 7 °C/10 dní). Vzhledem k tomu, že ČSN 56 0100 a ČSN 57 0101 doporučují jako testační půdu pro mléko a mléčné výrobky MPA s 1 % laktosy, bylo za stejných podmínek testováno 32 vzorků syrového mléka na tomto médiu. Výsledky získané při posouzení vzájemné korelace obou médií i kulti-vačních podmínek jsou velmi příznivé.



2. Hodnoty psychrotrofních kontaminant na testovaných půdách při kultivaci při 7 °C po deset dní — Values psychrotrophic contaminants on the tested soils during cultivation at 7 °C over ten days

Při porovnávání výsledků stanovení úrovně psychrotrofních kontaminant, získaných při testaci na MPA s glukosou, a to jak při kultivaci v PT po tři dny, tak v 7 °C po 10 dní, byla získána vysoká míra korelace ($r = 0,822$). Obdobně vysoká byla míra korelace ($r = 0,984$) mezi těmito kultivačními režimy, při porovnání výsledků stanovení úrovně kontaminant při testaci na MPA s laktosou. Obě tyto závislosti jsou statisticky významné při $P = 0,01$. Dosažené výsledky této práce plně podporují názory některých autorů (M i k a l o v á , 1982; B y r n e et al., 1989), že pro stanovení úrovně psychrotrofní mikroflóry je vhodná kultivace při 20 až

23 °C po dva až tři dny, případně doporučují předinkubaci vzorku a následnou kultivaci při 21 °C po 25 h (Phillips et al., 1983).

Dále byly u 32 vzorků syrového mléka porovnány výsledky stanovení úrovně psychrotrofních kontaminantů na MPA s glukosou proti výsledkům získaným na MPA s laktosou, a to jednak při kultivaci v PT po tři dny, jednak při 7 °C po 10 dní. Vzájemné srovnání těchto hodnot u jednotlivých vzorků je uvedeno na obr. 1 a 2. V obou případech byla stanovena vysoká míra korelace. U testace při PT (3 dny) je korelační koeficient daných testů $r = 0,921$, u testace při 7 °C (10 dní) je $r = 0,863$. Obě míry korelace mezi stanoveními na rozdílných testačních médiích jsou statisticky významné při $P = 0,01$. Dosažené výsledky prokázaly, že testační médium MPA s 1 % glukosy je pro kvantitativní stanovení psychrotrofních bakterií stejně vhodným médiem, jako normou doporučovaný MPA s 1 % laktosy. Tento výsledek je v souladu s údaji v zahraniční literatuře, kde v převážné většině jsou udávány testační média pro psychrotrofní mikroflóru s obsahem glukosy. Např. komerční PCA fy OXIOD (Witter, 1961; Wessels et al., 1989; Cromie et al., 1989), Tryptone glucose extract agar fy Difco (Zajac et al., 1983), Tryptone dextrose yeast extract agar (Khurana et al., 1989) a další.

I. Průměrné hodnoty (min. a max.) počtů psychrotrofních bakterií stanovené odlišnými kulivačními metodami — Average values (minimum and maximum) of the counts of psychrotrophic bacteria determined by different cultivation methods

Hodnocené testy ¹		$\bar{x}$	min.	max.	T-test ⁺
MPA s G	PT/3 dny	26 555 562,5	5000,0	150 000 000,0	2,0264
	7 °C/10 dní	23 101 906,25	5000,0	130 000 000,0	
MPA s L	PT/3 dny	28 359 562,5	5000,0	180 000 000,0	0,6916
	7 °C/10 dní	31 007 375,0	5000,0	240 000 000,0	
PT/3 dny ²	MPA s G	26 555 562,5	-	-	0,5372
	MPA s L	28 359 562,5	-	-	
7 °C/10 dní ²	MPA s G	23 101 906,25	-	-	1,3231
	MPA s L	31 007 375,0	-	-	

MPA s G = masopeptonový agar s glukosou — meat-peptone agar with glucose

MPA s L = masopeptonový agar s laktosou — meat-peptone agar with lactose

PT = pokojová teplota — room temperature

$\bar{x}$ = průměrná hodnota — average value

⁺ tabulková hodnota t_g -testu při $P_{0,005} = 2,042$ — table value t_g -test at $P_{0,005} = 2.042$

¹evaluated tests; ²days

Živnou půdu pro stanovení psychrotrofů, stejnou jako pro stanovení celkového počtu mikroorganismů doporučuje i K a d l e c (1991).

Pro potvrzení uvedeného vysokého statistického významu korelačních koeficientů byly rovněž hodnoceny průměrné hodnoty výsledků ($\bar{x}$) testovaných metod (tab. I). Při hodnocení rozdílu těchto veličin nebyly zjištěny v žádném ze sledovaných testů statisticky významné vyšší či nižší hodnoty $\bar{x}$, což potvrzuje vysokou míru korelace mezi testy.

ZÁVĚR

Byly posouzeny metodiky stanovení psychrotrofních kontaminant v syrovém mléce, s ohledem na nepřesnosti a nejasnosti, které v současné době jsou v naší legislativě. Přítomnost psychrotrofní mikroflóry má nesporný význam pro technologickou a hygienickou jakost syrového mléka. V naší předchozí práci (U r b a - n o v á et al., 1993) bylo dokumentováno, že stanovení těchto kontaminant je ekvivalentním kritériem jakosti syrového mléka. V předložené práci bylo prokázáno, že pro stanovení počtu psychrotrofních kontaminant v syrovém mléce je nejvhodnějším ředícím médiem fyziologický roztok (pH 7,2) a že použití MPA s glukosou, jako testačního média a zkrácení doby kultivace (při PT za tři dny), bez předinkubace vzorku, naprosto koreluje s metodou kultivace při 7 °C po 10 dní. Zkrácení doby kultivace je z hlediska praxe velmi významné.

Literatura

- BYRNE, R. D. - BISHOP, J. R. - MCGILLIARD, M. L.: Selective preliminary incubation for gram-negative psychrotrophic bacteria in milk. *J. Fd Protect.*, 52, 1989 : 396-398.
- CROMIE, S. J. - DOMMETT, T. W. - SCHMIDT, D.: Changes in the microflora of milk with different pasteurization and storage conditions and aseptic packaging. *Aust. J. Dairy Technol.*, 44, 1989 : 74-77.
- GRIFFITHS, M. W. - PHILLIPS, J. D. - MUIR, D. D.: Methods for rapid detection of post-pasteurization contamination in cream. *J. Soc. Dairy Technol.*, 37, 1984 : 22-26.
- HOLEC, J.: Návod k praktickým cvičením z hygieny mléka a mléčných výrobků. VŠV Brno, Ediční středisko 1983 : 206 s.
- JUFFS, B. H. S.: A four-day count for psychrotrophs. *Aust. J. Dairy Technol.*, 25, 1970 : 30-32.
- KADLEC, I.: Doporučené metodické postupy hodnocení jakosti nakupovaného mléka a činnosti centrálních laboratoří. *Veter. Péče potrav. Prům.*, 1991 : 29 s.
- KHURANA, A. S. - KAUR, J. - SINGH, A. - SEDHA, R. K.: Production of heat stable proteinases by psychrotrophic bacteria in milk. *J. Fd Sci. Technol.*, 26, 1989 : 72-75.

- KING, E. D. - WARD, M. K. - RANAY, D. J.: Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. clin. Med.*, 44, 1954 : 301.
- MIKALOVÁ, Y.: Psychrotrofní bakterie na potravinách živočišného původu. [Disertační práce.] Brno, 1982. 118 s. - UJEP.
- OLIVERIA, J. S. - PARMELEE, C. E.: Rapid enumeration of psychrotrophic bacteria in raw and pasteurized milk. *J. Milk Fd Technol.*, 39, 1976 : 269-272.
- PHILIPS, J. D. - GRIFFITHS, M. W. - MUIR, D. D.: Accelerated detection of post-heat-treatment contamination in pasteurized double cream. *J. Soc. Dairy Technol.*, 36, 1983 : 41-43.
- PHILLIPS, J. D. - GRIFFITHS, M. W. - MUIR, D. D.: Preincubation test to rapidly identify post-pasteurization contamination in milk and single cream. *J. Fd Protect.*, 47, 1984 : 391-393.
- REFAI, M. K.: Manuals of food quality control. 4. Microbiological analysis. Roma, FAO 1979.
- REINBOLD, G. W.: Indicator organisms in dairy products. *Fd Technol.*, 37, 1983 : 111-113.
- URBANOVA, E. - VYHNÁLKOVÁ, J. - MALÍKOVÁ, M.: Závislost počtu mezofilních a psychrotrofních bakterií u vzorků z prvovýroby mléka. *Potrav. Vědy*, 11, 1993 : 13-19.
- WESSELS, D. - JOOSTE, P. J. - MOSTERT, J. F.: Psychrotrophic, proteolytic and lipolytic properties of Enterobacteriaceae isolated from milk and dairy products. *Int. J. Fd Microbiol.*, 9, 1989 : 79-83.
- WITTER, L. D.: Psychrophilic bacteria - A review. *J. Dairy Sci.*, 44, 1961 : 983-1001.
- ZAJAC, M. - GLADYS, J. - SKARZYNSKA, M. - HÄRNULV, G. - BJÖRCK, L.: Changes in bacteriological quality of raw milk stabilized by activation of its lactoperoxidase system and stored at different temperatures. *J. Fd Protect.*, 46, 1983 : 1065-1068.
- Compendium of analytical methods. 1. Official methods of microbiological analysis of foods. Canada, Polyscience Publ. Inc. 1989.
- ČSN 56 0080. Potravinářské výrobky. 1987.
- ČSN 56 0100. Mikrobiologické zkoušení potravin, předmětů běžného užívání a prostředí potravinářských provozů. 1968.
- ČSN 57 0101. Mikrobiologické zkoušení mléka a mléčných výrobků. 1964.
- ČSN 57 0529. Syrové kravské mléko. 1986.

Došlo dne 1. 7. 1991

E. Urbanová (Research Institute of Veterinary Medicine, Brno, Czech Republic)

The evaluation of the methods of determination of a number of psychrotrophic bacteria in raw milk

The most often used and by literature recommended methods of psychrotrophic bacteria level, discrepancy occurring in these methods in the cultivation temperature and its length, and in the used diluting medium and in solid testing soil were evaluated.

Total three diluting media were tested on 20 milk samples (sterile distilled water of pH 7.0; physiological solution of pH 7.2; Butterfield solution of pH 7.2). The most optimum results were acquired with diluting the samples with physiological solution. There was a partly or full inhibition of psychrotrophic contaminants after application of distilled water, a slight inhibition was manifested even after application of the Butterfield medium.

Meat-peptone agar with glucose or lactose, respectively, was chosen for further experiments out of six tested solid cultivation media (meat-peptone agar with 1 % glucose; meat-peptone agar with 1 % lactose; King B agar; Pseudomonas F agar; TSA; TSA with 1 % yeast extract). Two cultivation regimes were compared in these solid media: 7 °C/10 days; room temperature /3 days.

When comparing the results of psychrotrophic contaminant level in 32 samples of raw milk acquired in testing MPA with glucose, that is both during the cultivation at the room temperature for three days, and at 7 °C for 10 days, a high degree of correlation was confirmed ($r = 0.822$). The correlation rate ($r = 0.984$) was high in similar way between these cultivation regimes, in comparing with the results of contaminant level determination in tests of MPA with lactose. Both these dependencies were statistically significant at $P = 0.01$.

Except this, the results of psychrotrophic contaminant level for MPA with glucose were compared in 32 raw milk samples to those obtained with MPA and lactose, either in the cultivation at the room temperature for three days, or at 7 °C for ten days. Mutual comparison of these values in individual samples is shown on Figs 1 and 2. A high rate of correlation was determined in both cases. In tests at the room temperature (three days) the correlation coefficient of the given tests is $r = 0.921$ and in testing at the temperature of 7 °C (10 days) the correlation coefficient $r = 0.863$. Both correlation rates between determinations on different testing media are statistically significant at $P = 0.01$.

To confirm the given high statistical significance of correlation coefficients, average values of results ($\bar{x}$) of tested methods were evaluated (Table I). Statistically higher of lower significant values $\bar{x}$ were not found in any of the tests under study, this confirms a high correlation rate among tests.

diluting medium; stable testing soil; cultivation regime; correlation rate

REOLOGICKÉ VLASTNOSTI CIEST Z CÍCERA*Modhir ABID ALI, Ladislav DODOK, Gabriela HALÁSOVÁ**Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava*

Práca sa zameriava na sledovanie reologických vlastností ciest pripravených zo zmesi pšeničnej múky hladkej a celozrnnej múky z cícera domácej odrody a dovezeného z Iraku pri 10 a 20% náhrade. Na ich podklade boli realizované laboratórne pokusy mikropečením a prevádzkový pokus v k. p. Pečivárne v Seredi. Odporúča sa nahradiť pšeničnú múku celozrnnou múkou z cícera pri výrobe chleba a bežného pečiva v množstve 10 % a pri výrobe lisovaných sušienok do 20 %. Trvanlivé pečivo získalo žlté sfarbenie vplyvom prírodzenej farby aditíva, takže sa vylučuje použiť syntetické farbivo. Všetky organoleptické vlastnosti boli priaznivé. Ďalšou výhodou použitia tejto múky je zvýšenie nutričnej hodnoty výrobkov ako aj ich obohatenie o vlákninu. Táto surovina poskytuje možnosť jej využitia pri výrobe diétnych výrobkov určených pre chorých na coeliakiu. K jej pozitívam patria aj vlastnosti plodiny súvisiace s jej pestovaním.

cícer; pekárky a pečivársky priemysel; lepok; farinograf; extenzograf; mikropečúci pokus

Po získaní potrebných informácií o chemickom zložení celozrnných múk z cícera (cizrny) bolo rozhodnuté o následných analýzach z aspektu ďalšieho využitia tejto suroviny, a to pre pekársky a pečivársky priemysel.

MATERIÁL a METÓDY

Pri laboratórnych a prevádzkových pokusoch sa používala pšeničná múka hladká pečivárska slabá (ON 56 0636) a celozrnná múka z cícerov (D o d o k et al., 1992).

Experimentálne sa sledoval vplyv celozrnnnej múky z cícerov v zmesi so pšeničnou múkou na množstvo a vlastnosti mokrého lepku, pružnosti, ťažnosti, napučievania a množstva suchého lepku (S m e l í k a kol., 1985). Reologické vlastnosti ciest boli skúmané farinograficky a extenzograficky (S m e l í k a kol., 1985). Predmetom ďalšieho výskumu bol laboratórny pokus mikropečením s jeho senzorickým vyhodnotením (D o d o k a kol., 1989), ako aj stanovením merného

objemu, vlhkosti, obsahu titrovateľných kyselín (S m e l í k a kol., 1985) a prevádzkový pokus s výrobou lisovaných sušienok v k. p. Pečivárne v Seredi.

Vzorky použité v pokusu: **A** — celozrnná múka z cícera pochádzajúceho z Piešťan a **B** — celozrnná múka z cícera pochádzajúceho z Iraku.

VÝSLEDKY a DISKUSE

Pretože múka z cícera netvorí konzistentný lepok, sledoval sa jej vplyv na vlastnosti lepu, cesta, chleba a sušienok v zmesi so pšeničnou múkou, a to jej náhradou v množstve 10 a 20 % celozrnnou múkou z cícera.

Z praktického hľadiska jej využitia v cereálnej technológii sa venovala pozornosť v prvom rade jej vplyvu na zmeny množstva a vlastnosti lepu (tab. I), ďalej reologickým vlastnostiam ciest sledovaných farinografom (tab. II), extenzografom (tab. III) a mikropečúcim pokusom (tab. IV).

Z uvedeného prehľadu (tab. I) vidieť pokles hodnôt mokrého lepu spôsobený stúpajúcim množstvom náhrady pšeničnej múky celozrnnou múkou z cícera. Hodnoty u sledovaných vzoriek boli však veľmi blízke. Ťažnosť lepu sa výrazne zhoršila až pri 20% náhrade.

I. Vyhodnotenie vlastností lepu pšeničnej múky a múky s náhradou pšeničnej múky celozrnnou múkou z cícera — Evaluation of gluten properties and replacement of wheat flour by whole chick pea meal

Vlastnosti ¹	Pšeničná múka ¹⁴	Vzorka ¹⁵ A		Vzorka B	
		10 %	20 %	10 %	20 %
Množstvo mokrého lepu (% v suš.) ²	34,9	32,8	29,5	32,6	29,0
Ťažnosť ³	ťažný ⁴	stredne ťažný ⁵	málo ťažný ⁶	stredne ťažný	málo ťažný
Číslo ťažnosti ⁷	4	3	2	3	2
Pružnosť ⁸	stredne pružný ⁹	stredne pružný	pružný ¹⁰	stredne pružný	pružný
Číslo pružnosti ¹¹	3	3	2	3	2
Napučiavanie ¹² (cm ³)	19	18	16	18	15
Množstvo suchého lepu (% v suš.) ¹³	11,6	10,6	9,3	10,8	9,0

¹properties; ²quantity of wet gluten (% in dry matter); ³extensibility; ⁴extensible; ⁵medium extensible; ⁶little extensible; ⁷extensibility number; ⁸elasticity; ⁹medium elastic; ¹⁰elastic; ¹¹elasticity number; ¹²swelling; ¹³dry gluten amount; ¹⁴wheat flour; ¹⁵sample

Výsledky skúmania reologických vlastností cesta farinografom za použitia celozrnnej múky z cícera sú uvedené v tab. II.

II. Vyhodnotenie farinogramov pšeničnej múky a múky s náhradou celozrnnou múkou z cícera — Evaluation of farinograms of wheat flour and of flour with substitution of wheat flour by chickpea whole grain flour

	Pšeničná múka ⁶	Vzorka ⁷ A		Vzorka B	
		10 %	20 %	10 %	20 %
Väznosť ¹ (%)	59,5	60,3	61,3	60,5	61,0
Čas vývinu cesta ² (min)	5,5	5,0	4,0	5,0	4,0
Stupeň zmäknutia ³ (BJ)	50	55	90	45	80
Stabilita ⁴ (min)	9,0	8,5	5,0	8,0	4,5
Index mechanickej odolnosti ⁵ (BJ)	20	30	75	40	60

¹absorption; ²dough development time; ³weakening degree; ⁴stability; ⁵mechanical resistance index; ⁶wheat flour; ⁷sample

Pri farinografickom meraní reologických vlastností so zvyšovaním náhrady pšeničnej múky celozrnnou múkou z cícera väznosť múk stúpala, čas vývinu cesta a hodnoty stability klesali, obzvlášť pri 20% náhrade. Hodnoty zmäknutia sa zvyšovali. Dochádzalo k postupnému zoslabovaniu konzistencie cesta. K výraznejším rozdielom dochádzalo až pri 20% náhrade pri oboch vzorkách cícera. Aj pri farinografickom štúdiu boli získané hodnoty oboch druhov cícera pomerne blízke.

Z výsledkov extenzografického merania (tab. III) je evidentný pokles extenzografickej energie, klesajúci odpor a ťažnosť. Aj v tomto prípade vzorka cícera z Iraku vykazovala podobné vlastnosti ako vzorka z Piešťan.

Ďalším v rade experimentov bol mikropečúci pokus, ktorého vyhodnotenie je uvedené v tab. IV.

Zvyšovaním náhrady pšeničnej múky celozrnnou múkou z cícera objem chlebov klesal. Oproti porovnávajúcej vzorke bez použitia cícerovej múky klesali merné objemy z pôvodnej hodnoty 282 m³ na 260 m³ (priemerne o 8 %) pri 10% náhrade a až na 241 m³ (o 15 %) pri 20% náhrade pri vzorke A. K podobnému poklesu došlo u vzorky B pri 10% náhrade na hodnotu 250 cm³ (o 12 %). Organoleptické vlastnosti bochníkov pri 10% náhrade neboli ovplyvnené, pri náhrade 20 % bola zmenená chuť a vôňa, avšak nie nepríjemne, ale pripomínali príchuť a vôňu hrachu. Striedka mala žltšiu farbu vplyvom prirodzenej farby celozrnných múk. Vzorka cícera z Iraku vykazovala podobné vlastnosti ako vzorka z Piešťan.

III. Vyhodnotenie extenzogramov pšeničnej múky a múky s náhradou celozrnnou múkou z cícera — Evaluation of extensograms of wheat flour and of flour with substitution of wheat flour by chickpea whole grain flour

		Pšeničná múka ⁵	Vzorka ⁶ A		Vzorka B	
			10 %	20%	10%	20%
Extenzografická energia ¹	a)	84,7	72,7	55,4	73,8	56,4
	b)	107,9	83,5	68,5	85,5	67,5
Extenzografický odpor ² (EJ)	a)	470	370	310	380	350
	b)	520	430	370	430	380
Extenzografická ťažnosť ³ (mm)	a)	120	115	107	120	116
	b)	135	127	110	130	113
Odpor/Ťažnosť ⁴	a)	3,91	3,21	2,89	3,16	3,01
	b)	3,90	3,38	3,36	3,30	3,36

odležanie cesta — after pretting dough: a) 20 min; b) 65 min

¹extensographic energy; ²extensographic resistance (EU); ³extensographic extensibility; ⁴resistance/extensibility; ⁵wheat flour; ⁶sample

IV. Hodnotenie mikropéčúceho pokusu — Evaluation of a microwave baking experiment

Vlastnosť ¹	Pšeničná múka ¹³	Vzorka ¹⁴ A		Vzorka B	
		10 %	20 %	10 %	20 %
Tvar výrobku ²	4	3	3	3	3
Farba kôrky ³	4	4	4	4	4
Hrúbosť, tvrdosť kôrky ⁴	4	4	4	4	4
Pružnosť striedky ⁵	4	4	4	4	4
Pórovitosť striedky ⁶	4	3,6	3	3,8	3
Farba striedky ⁷	4	3,6	3	3,5	3
Vôňa ⁸	4	3,8	3	3,8	3
Chuť ⁹	4	3,8	3	3,6	3
Odpor pri zahryznutí, nie žuvaní ¹⁰	4	4	4	4	4
Lepivosť (k podnebiu) ¹¹	4	4	4	4	4
Suma hodnôt ¹²	40	37,8	35	37,7	35

¹property; ²product shape; ³crust colour; ⁴thickness, crust hardness; ⁵crumb elasticity; ⁶crumb porosity; ⁷crumb colour; ⁸odour; ⁹taste; ¹⁰resistance at biting, not chewing; ¹¹adherence (to the palate); ¹²sum of values; ¹³wheat flour; ¹⁴sample

V praxi odporúčame použiť nižšiu náhradu pšeničnej múky celozrnnou múkou z cícera, kedy nedochádza k tak výrazným zmenám tvaru a sfarbeniu. Z tohto hľadiska sa javí optimálna náhrada 10 %.

Po získaní základných poznatkov o chemickom zložení celozrnnnej múky z cícerov a ich vplyvu na reologické vlastnosti ciest pripravených v zmesi so pšeničnou múkou pristúpili sme aj k laboratórnej výrobe sušienok za tých istých podmienok náhrady a potom k prevádzkovému pokusu.

Bolo pozorované, že cesto pripravené v zmesi s celozrnnou múkou z cícera bolo masnejšie a ťažšie sa spracovávalo. Pri použití cícerovej múky je nutné akceptovať niektoré odlišné vlastnosti týkajúce sa napr. vyššieho množstva bielkovín v cícerovej múke, ďalej cukrov, nižšieho množstva škrobu a okrem toho tiež jeho vlastností. Vzhľadom k týmto skutočnostiam bol znížený prídavok tuku o 10 %.

Výhodou tejto celozrnnnej múky v týchto prípadoch je jej žlté sfarbenie, ktoré možno uplatniť pri výrobkoch, kde sa používajú syntetické farbivá na ich náhradu.

Po úspešných laboratórnych skúškach sa pristúpilo k príprave prevádzkového pokusu. Tento sa realizoval iba s celozrnnou cícerovou múkou z Piešťan, a to pri výrobe lisovaných sušienok, nakoľko ďalšia vzorka cícera z Iraku nepostačovala svojím množstvom.

Cesto sa miesilo v miesiči MV 14 s horizontálnymi miesidlami pri frekvencii otáčania miesidiel 18 min^{-1} . Počas prípravy cesta a jeho spracovania sa neprejavili žiadne negatívne javy. Cesto bolo správne premasťené, tak ako si to vyžaduje technológia, krátke drobné, dobre tvarovateľné, nelepilo sa na valce a korpusy sa dobre odsadzovali na dopravný pás. Receptúra (až na obsah tuku), čas miesenia, teploty a čas pečenia boli rovnaké ako pri výrobe sušienok typu Club (D o d o k, 1988).

Vplyv celozrnnnej múky sa neprejavil negatívne v žiadnom zo sledovaných znakov (farba, tvar, konzistencia, vôňa, chuť). V porovnaní s chlebíkmi je pri výrobe sušienok situácia odlišná. Tu aj 20% náhrada pšeničnej múky celozrnnou múkou z cícera nespôsobila zhoršenie tvaru a organoleptických vlastností výrobku, preto je výhodnejšia 20% náhrada vzhľadom k zvýšeniu nutričnej hodnoty výrobku a zoslabeniu lepku silných múk. Výrobky boli hodnotené odbornou podnikovou komisiou, a to veľmi priaznivo podľa všetkých kritérií.

Literatúra

- DODOK, L.: Chémia a technológia trvanlivého pečiva. Bratislava, Alfa 1988 : 297 s.
 DODOK, L. a kol.: Laboratórne overenie novošľachtených kmeňov pekárskeho droždia. [Predbežná správa.] Bratislava, CHTF-SVŠT 1989 : 58 s.

DODOK, L. - ABID ALI, M. - HALÁSOVÁ, G. - POLÁČEK, I.: Vlastnosti zrna a základné chemické zloženie celozrnej múky cícera. Potr. Vědy, 10, 1992 : 303-308.

SMELÍK, A. a kol.: Laboratórium odboru „Chémia a technológia sacharidov“. Bratislava, ES SVŠT 1985 : 334 s.

ON 56 0636. Pšeničná múka hladká špeciál. 1977.

Došlo dňa 11. 7. 1991

*L. Dodok, Wodhir Abid Ali, G. Halášová (Faculty of Chemical Technology,
Slovak Technical University, Bratislava, Slovak Republic)*

Rheological characteristics of doughs of whole grain chickpea flour

The paper is focused on the examination of the rheological characteristics of doughs prepared from a mixture of fine ground wheat flour and of whole grain chickpea flour. The chickpea flour does not form consistent gluten. Therefore, attention was paid to its effect on the amount and characteristics of gluten (Table I), then to rheological characteristics of doughs examined farinographically (Table II), extensographically (Table III), as well as by a microbaking experiment (Table IV).

The decrease of amount of wet gluten was caused by the replacement of wheat flour with chickpea whole grain flour.

The farinographic measurement showed:

1. the increase in the binding water capacity mixed flours,
2. the decrease of dough development time and stability value,
3. the increase in softening values.

From extensographic measurements (Table III) is evident the decrease of extensographic energy, resistance and ductility.

With the increase of replacement with chickpea whole grain flour, volume of bread rolls decreased. Organoleptic characteristics of loaves at 10 % replacement is optimal.

Full-scale experiment was done in the Biscuit Factory at Sereď. This was performed in the production of pressed out biscuits. The biscuits gained yellow colouring as a consequence of natural colour of chickpea flour and therefore, there is no need of any colouring matter all organoleptic characteristics were favourable.

Advantage of using chickpea flour is in an increase of the nutrition value of the products and their enrichment by fibrous matter. In biscuit it was recommended to replace to 20 of wheat flour by chickpea flour.

chickpea; baking and biscuit industry; extesograph; microbaking trial

PŘEHLEDY

PROBLEMATIKA ORGANICKÝCH SLOUČENIN CHLORU V POTRAVINÁŘSKÝCH HYDROLYZÁTECH BÍLKOVIN

Jan VELÍŠEK, Kateřina LEDAHUDCOVÁ

Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6

Hydrolyzáty bílkovin používané ve světě pro potravinářské účely jsou reprezentovány především enzymovými a chemickými hydrolyzáty. V našich zemích i jinde v Evropě mají největší význam chemické (kyselé) hydrolyzáty bílkovin, tzv. téměř úplné potravinářské hydrolyzáty, které představují hydrolyzáty získávané pomocí kyseliny chlorovodíkové, zneutralizované a filtrací zbavené tzv. huminů a převážně části málo rozpustných aminokyselin (M a r e č e k, 1955). Během hydrolyzy bílkovinných surovin (hlavními surovinami jsou olejninové šroty, pšeničný lepek aj. na bílkoviny bohaté materiály) dochází nejen k hydrolyze bílkovin, ale hydrolyzují se i další složky surovin jako jsou sacharidy, lipidy aj. Hydrolyzát je pak směsí velkého množství různorodých sloučenin, z nichž mnohé se podílejí na jeho organoleptických vlastnostech, zejména na chuti a aróma. Hlavní skupiny doposud identifikovaných chemických složek hydrolyzátů zahrnují kromě běžných aminokyselin také některé peptidy, četné karboxylové kyseliny, jejich estery a laktony, karbonylové sloučeniny (aldehydy, ketony, oxokyseliny), alkoholy, fenoly, četné dusíkaté a siřné alifatické, aromatické a heterocyklické sloučeniny (hlavně pyrroly, pyraziny a thiazoly) a kyslíkaté heterocykly (hlavně deriváty 2-furankarboxaldehydu). Až do roku 1978, kdy byla publikována první z prací zabývajících se výskytem a mechanismy vzniku organických sloučenin chloru odvozených od glycerolu (V e l í š e k et al., 1978), nebyly žádné organické chlorované sloučeniny v hydrolyzátech bílkovin prokázány.

Organické sloučeniny chloru a obecně všechny halogensloučeniny prokázané v potravinách se řadí mezi cizorodé látky znečišťující, tedy kontaminanty potravin (V e l í š e k, 1991). Nejčastějším zdrojem kontaminace je chemizace zemědělství, zdrojem organických sloučenin chloru jsou však také některé aditivní látky. Prekurzory organických sloučenin chloru v hydrolyzátech bílkovin jsou kyselina chlorovodíková, reziduální lipidy a sacharidy surovin. Vzhledem k tomu, že kyselina chlorovodíková se ve formě tak koncentrovaných roztoků v jiných technologiích prakticky nepoužívá, nepřekvapuje, že organické sloučeniny chloru prokázané v hydrolyzátech nebyly v jiných potravinách nalezeny.

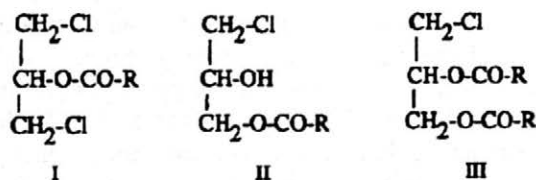
Hlavní skupiny identifikovaných chlorovaných sloučenin

V potravinářských hydrolyzátech bílkovin, používaných jako koření (polévkové) přípravky a také jako suroviny např. pro výrobu bujónů, hotových polévek aj. výrobků, byly do současné doby prokázány 2 skupiny organických sloučenin chloru. První skupinou jsou sloučeniny odvozené od reziduálních lipidů surovin, druhou skupinu reprezentuje pouze derivát 2-furankarboxaldehydu odvozený od přítomných sacharidů.

Do první skupiny sloučenin, které vykazují mutagenní a karcinogenní účinky náleží estery tzv. chlorhydrinů glycerolu (Š i l h á n k o v á et al., 1982). Prokázány byly estery 1,3-dichlor-2-propanolu, diestery a 1-estery 3-chlor-1,2-propandiolu. Další z identifikovaných složek hydrolyzátů této skupiny jsou chlorhydriny glycerolu, především se jedná o 1,3-dichlor-2-propanol a 3-chlor-1,2-propandiol a jejich isomery a jim příbuzné chlorované propanoly a příslušné chloralkany. Tyto látky vykazují vesměs stejné fyziologické účinky jako příslušné estery. Další z organických sloučenin chloru vznikající z lipidů, resp. z jejich doprovodných látek, jsou chlorované analogy sterolů (3-chlor-5-cholesteny). Degradací sacharidů vzniká 5-chlormethyl-2-furankarboxaldehyd.

Estery chlorhydrinů glycerolu

Jako hlavní představitelé těchto sloučenin v surových hydrolyzátech bílkovin a odpadních huminech byly prokázány estery odvozené od 1,3-dichlor-2-propanolu a od 3-chlor-1,2-propandiolu (V e l í š e k et al., 1980), ale nepochybně jsou přítomny i estery příslušných isomerů, tj. 2,3-dichlor-1-propanolu a 2-chlor-1,3-propandiolu:



I = estery 1,3-dichlor-2-propanolu (1,3-dideoxy-1,3-dichlormonoacylglyceroly; 2-acyl-1,3-dichlorpropany); II = 1-monoestery 3-chlor-1,2-propandiolu (3-deoxy-3-chlormonoacylglyceroly; 1-acyl-2-hydroxy-3-chlorpropany); III = diestery 3-chlor-1,2-propandiolu (3-deoxy-3-chlordiacyl-glyceroly; 1,2-diacyl-3-chlorpropany)

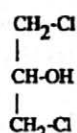
Mechanismus vzniku těchto sloučenin byl studován v modelových systémech obsahujících triacylglyceroly, fosfolipidy i přirozené lipidy surovin pro výrobu hydrolyzátů.

Bylo zjištěno, že tyto látky vznikají acidolýzou kyselinou chlorovodíkovou a hydrolyzou z přítomných esterů glycerolu. Kvalitativní složení mastných kyselin vázaných v esterech chlorhydrinů glycerolu je prakticky stejné jako složení mastných kyselin výchozích lipidů, přítomny jsou kyseliny olejová, linolová, palmitová, stearová, linolenová a další. Kvantitativní složení mastných kyselin se v závislosti na řadě faktorů liší, hlavní kyselinou je zpravidla kyselina olejová.

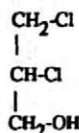
V surovém zneutralizovaném sójovém hydrolyzátu byly nalezeny estery 1,3-dichlor-2-propanolu v množství 8 mg/kg, diestery 3-chlor-1,2-propandiolu v množství 4 mg/kg a 1-estery 3-chlor-1,2-propandiolu v množství 35 mg/kg. V odpadních huminech se množství esterů 1,3-dichlor-2-propanolu pohybovalo v mezích od 0 do 65 mg/kg, množství diesterů 3-chlor-1,2-propandiolu bylo 35 až 1890 mg/kg a množství 1-esterů 3-chlor-1,2-propandiolu 4 až 205 mg/kg. Jak je zřejmé, estery chlorhydrinů glycerolu se ve větším množství vyskytují pouze v surovém zneutralizovaném hydrolyzátu, po filtraci se jejich obsah značně sníží, takže v komerčních výrobcích se vyskytují pouze ve stopách. Bylo zjištěno, že obsah esterů chlorhydrinů glycerolu závisí na podmínkách vedení hydrolyzy. Kupříkladu, v huminech, kde bylo pro výrobu hydrolyzátu použito 1000 g sójového šrotu a 1000 g kyseliny chlorovodíkové, byl celkový obsah esterů chlorhydrinů glycerolu 242 mg/kg, v huminech, kde bylo použito 1000 g suroviny a 905 g téže kyseliny chlorovodíkové a 167 g vody se snížil obsah esterů chlorhydrinů glycerolu na 170 mg/kg. V huminech odpadajících z výroby hydrolyzátu, k jehož výrobě bylo použito 1000 g suroviny, 787 g kyseliny chlorovodíkové a 667 g vody byl obsah esterů chlorhydrinů glycerolu 1880 mg/kg. Kromě množství a koncentrace použité kyseliny chlorovodíkové závisí obsah těchto látek i na dalších faktorech (doba hydrolyzy, tlak apod.). Za jinak stejných podmínek však materiály s nejnižším obsahem esterů chlorhydrinů glycerolu obsahují největší množství chlorhydrinů glycerolu a naopak (V e l í š e k et al., 1991 - nepublikováno).

Chlorhydriny glycerolu a příbuzné sloučeniny

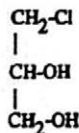
Chlorhydriny glycerolu, tzn. 1,3-dichlor-2-propanol (α , γ -dichlorhydrin glycerolu), jeho isomer 2,3-dichlor-1-propanol (α , β -dichlorhydrin glycerolu) a 3-chlor-1,2-propandiol (α -monochlorhydrin glycerolu) byly jako složky hydrolyzátní nalezeny v roce 1978 (V e l í š e k et al., 1978), poslední z chlorhydrinů glycerolu, 2-chlor-1,3-propandiol (β -monochlorhydrin glycerolu) byl prvně prokázán jako produkt reakce glycerolu s kyselinou chlorovodíkovou v modelových pokusech, později také jako složka hydrolyzátní (V e l í š e k et al., 1979). Kromě chlorhydrinů glycerolu byl jako složka hydrolyzátní prokázán také 3-chlor-1-propanol (V e l í š e k et al., 1978), v modelovém systému glycerol-kyselina chlorovodíková (V e l í š e k et al., 1979) a později i v hydrolyzátech byl nalezen 1,3-dichlorpropan. Přítomny jsou další isomery 3-chlor-1-propanolu, tj. 2-chlor-1-propanol a 1-chlor-2-propanol a zřejmě také 1,2-dichlorpropan. Poslední z příbuzných sloučenin, 1,2,3-trichlorpropan (trichlorhydrin glycerolu) je ve vodných roztocích velmi nestálý a nelze proto očekávat, že by mohl být v hydrolyzátech prokázán.



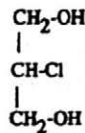
IV



V



VI



VII

IV = 1,3-dichlor-2-propanol; V = 2,3-dichlor-1-propanol; VI = 3-chlor-1,2-propandiol;
VII = 2-chlor-1,3-propandiol

V modelových pokusech se prokázalo, že prekursor chlorhydrinů glycerolu i zřejmě dalších příbuzných sloučenin jsou triacylglyceroly aj. estery glycerolu, resp. příslušné estery chlorhydrinů glycerolu. Všechny chlorhydriny glycerolu a některé další chlorované sloučeniny vznikají však také při reakci glycerolu s kyselinou chlorovodíkovou (prekurzorem některých látek by mohl být 1,2,3-trichlorpropan vznikající jako nestálý meziprodukt).

Obsah glycerolu v různých typech hydrolyzátů se pohyboval v širokých mezích od 170 do 3000 mg/kg. Reziiduálních lipidů bývá v surovinách pro výrobu hydrolyzátů zpravidla do 2 %. Z triacylglycerolů a jiných esterů glycerolu ve srovnání s glycerolem však vzniká při reakci s kyselinou chlorovodíkovou nesrovnatelně vyšší množství chlorovaných produktů (substituce hydroxyskupiny chlorem v případě glycerolu, intersterifikace mastné kyseliny minerální kyselinou v případě triacylglycerolů aj. lipidů).

Bylo prokázáno, že relativní poměr chlorhydrinů glycerolu v hydrolyzátech je přibližně následující:

2,3-dichlor-1-propanol	1
1,3-dichlor-2-propanol	10
2-chlor-1,3-propandiol	100
3-chlor-1,2-propandiol	1000

Koncentrace 1,3-dichlor-2-propanolu v hydrolyzátech se přitom v závislosti na množství a koncentraci použité kyseliny a na dalších faktorech pohybují v mezích od 0,1 do 6 mg/kg, koncentrace 3-chlor-1,2-propandiolu pak v mezích od 100 do 800 mg/kg. U hydrolyzátů vyrobených ze suroviny s vysokým obsahem lipidů je i vyšší obsah chlorhydrinů glycerolu. Vzhledem k tomu, že dichlorhydriny glycerolu a zvláště pak monochlorhydriny glycerolu jsou polární, ve vodě dobře rozpustné sloučeniny, nelze očekávat jejich kumulaci v odpadních huminech jako tomu bylo v případě esterů těchto látek. Ostatní chlorované alkoholy a chloralkany se vyskytují v množství nižším než chlorhydriny glycerolu.

Maximální přípustná koncentrace 1,3-dichlor-2-propanolu, resp. tzv. dichlorhydrinů glycerolu v hydrolyzátech bílkovin a ve výrobcích obsahujících tyto hydrolyzáty je dnes v evropských i dalších zemích 0,05 mg/kg, tj. 50 µg/kg (ppb). Toto omezení souvisí s vyřešením jednoho ze způsobů dekontaminace hydrolyzátů (Faesi et al., 1987). Tato sloučenina (bod varu 175 °C, rozpustnost ve vodě při 20 °C je 15,2 %) tvoří s vodou azeotropickou směs o bodu varu 99 °C, která obsahuje 76,8 % vody a 23,2 % 1,3-dichlor-2-propanolu. Hydrolyzát se po neutralizaci, filtraci, zrání a další filtraci stripuje vodní párou za sníženého tlaku tak, aby jeho hustota zůstala konstantní, přitom se současně s 1,3-dichlor-2-propanolem odstraní i jeho isomer 2,3-dichlor-1-propanol, který má podobné fyzikálně-chemické vlastnosti, odstraní se i další minoritní těkavé chlorované sloučeniny.

Problémy související s výskytem 3-chlor-1,2-propandiolu se řeší s určitým zpožděním. Bylo zavedeno několik omezení, která se týkají maximální přípustné koncentrace v hydrolyzátech. Zhruba od počátku roku 1989 byly např. v SRN vyráběny hydrolyzáty s obsahem 3-chlor-1,2-propandiolu do 20 mg/kg, koncem téhož roku byl již tento limit 10 mg/kg a od počátku roku 1990 přicházejí na trh pouze výrobky s obsahem nižším než 1 mg/kg. Rozpustnost 3-chlor-1,2-propandiolu ve vodě při 20 °C je však neomezená. Při tlaku 101,32 kPa je bod varu této sloučeniny 213 °C, 3-chlor-1,2-propandiol netéká s vodní párou a nemůže proto být stejným způsobem jako 1,3-dichlor-2-propanol odstraňován. Snad jedinou možností odstranění této sloučeniny, resp. snížení jejího obsahu v hydrolyzátech, je chemická metoda, to znamená reakce se složkami hydrolyzátu v slabě alkalickém prostředí. Důsledkem je však i určitá změna organoleptických vlastností takto zpracovaného hydrolyzátu a vzhledem k tomu, že se reakce provádí v alkalickém prostředí s následným okyselením hydrolyzátu na původní hodnotu pH, je důsledkem také nárůst obsahu chloridu sodného v hydrolyzátu, resp. v odpadech z výroby (v huminech). Důsledkem je i poněkud snížený obsah dusíku v hydrolyzátech (těkání amoniaku a aminů v alkalickém prostředí), destrukce některých aminokyselin, jejich racemizace a zřejmě existuje i možnost vzniku nefrotoxického lysinoalaninu. Tato dodatečná technologická operace má rovněž vliv na cenu výrobku (použití většího množství chemikálií, snížená výrobní kapacita, dodatečná práce atd.). Současně s 3-chlor-1,2-propandiolem a jeho isomerem lze samozřejmě snížit obsah na požadovanou koncentraci také u dichlorhydrinů glycerolu.

Chlorované analogy sterolů

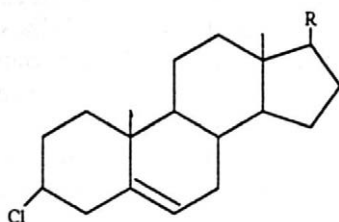
Jako složky nezmýdelnitelného podílu lipidů hydrolyzátů i huminů byly identifikovány 3-chlor-5-cholesteny odvozené od cholesterolu, kampesterolu, stigmasterolu a sitosterolu, tedy všech hlavních sterolů, které se vyskytují v surovinách pro výrobu hydrolyzátů.

V množství 28 mg/kg byl např. v sójovém hydrolyzátu nalezen chloranalog sitosterolu. Značně vyšší množství chlorovaných sterolů se však vyskytují v odpadních huminech, kde byl v množství asi 2 mg/kg přítomen 3-chlor-5-cholesten (analog cholesterolu), 3-chlor-24-methyl-5-cholesten (analog kampesterolu) byl přítomen v množství 1 mg/kg,

ve stejném množství byl přítomen 3-chlor-24-ethyl-5,22-cholestadien (analog stigmasterolu) a v množství 2 mg/kg byl přítomen 3-chlor-24-ethyl-5-cholesten (chlorovaný analog sitosterolu) (V e l í š e k et al., 1986).

Prekurzory těchto látek, jak prokázaly modelové pokusy, jsou jednak volné steroly, jednak jejich estery s mastnými kyselinami, případně i další deriváty sterolů. Lze předpokládat, že analogické produkty budou vznikat i při reakci kyseliny chlorovodíkové s triterpenovými alkoholy, které jsou vedle sterolů další významnou složkou nezmýdli-
telného podílu lipidů surovin, používaných k výrobě hydrolyzátů.

Studována byla intestinální absorpce, distribuce a metabolismus 3-chlor-5-cholestenu a 3-chlor-24-ethyl-5,22-cholestadienu (3-chlor-5-stigmastenu) u myši po podání látek žaludeční sondou. Bylo zjištěno, že po dvou hodinách se převážné množství chloranalogů obou sterolů nacházelo v tlustém a ve slepém střevě, asi 0,5 % z celkového množství 3-chlor-5-cholestenu bylo distribuováno mimo trávicí trakt, zejména do jater. V malé míře byl 3-chlor-5-cholesten metabolizován na cholesterol a 4-cholesten-3-on. Další fyziologické účinky chlorovaných analogů sterolů studovány nebyly (W e b e r, 1989).



VIII = 3-chlor-5-cholesteny

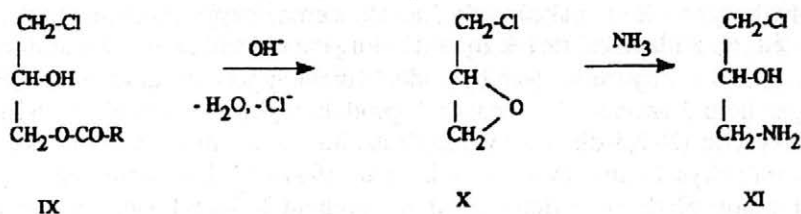
5-Chlormethyl-2-karboxymethylfuraldehyd

Chlorovaný analog 5-hydroxymethyl-2-furankarboxaldehydu, 5-chlormethyl-2-furankarboxaldehyd byl prokázán pouze v sójovém a lepkovém hydrolyzátu vyrobených tradiční technologií (1,8, resp. 1,0 mg/kg). Lze předpokládat, že tato sloučenina (vzhledem ke svým vlastnostem - nestálost ve vodných roztocích - hydrolyzáta na 5-hydroxymethyl-2-furankarboxaldehyd) nebude vůbec přítomna ve výrobcích, při jejichž výrobě se současně v alkalickém prostředí degradují chlorhydriny glycerolu.

Další reakce chlorovaných sloučenin

Všechny estery chlohydrinů glycerolu obsahují v molekule reaktivní chlormethyl-ovou skupinu, 1-estery 3-chlor-1,2-propandiolu jsou současně chlorhydriny a jako takové mohou reagovat obdobně jako i jiné chlorhydriny s dalšími složkami hydrolyzátů. V huminech byly např. jako reakční produkty těchto sloučenin (1-esterů 3-chlor-1,2-propandiolu) s amoniakem přítomným ve formě amonných solí (chlorid amonný) prokázány příslušné estery 3-amino-1,2-propandiolu v množství od 7 do 1130 mg/kg (V e l í š e k et al., 1991 - nepublikováno).

Vzhledem k mechanismu této reakce se nedá předpokládat, že by vznikaly rovněž aminoanalogy z dalších esterů chlorhydrinů glycerolu, může však docházet k reakcím 1-esterů 3-chlor-1,2-propandiolu s dalšími aminosloučeninami, např. s aminy nebo

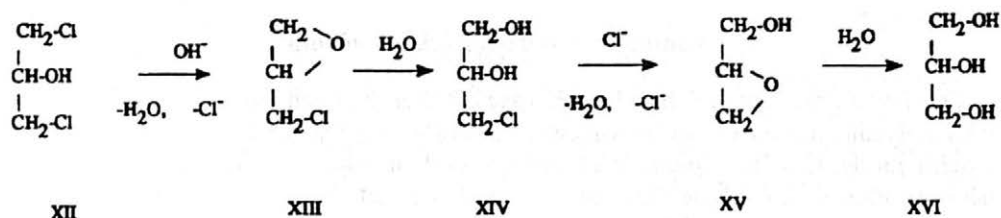


IX = 1-estery 3-chlor-1,2-propandiolu; X = estery glycidolu (2,3-epoxy-1-propanolu, hydroxymethyloxiranu); XI = estery 3-amino-1,2-propandiolu

s aminokyselinami. Tyto sloučeniny však prokázány nebyly. Ze stejných důvodů jako i v případě esterů chlorhydrinů glycerolu je i v případě jejich reakčních produktů hlavní podíl těchto produktů přítomen v huminech. V hydrolyzátech nebyly žádné reakční produkty nalezeny.

Chlorhydriny glycerolu jsou relativně stabilní sloučeniny. Meziproduktem degradace 1,3-dichlor-2-propanolu i 2,3-dichlor-1-propanolu ve vodných roztocích je 3-chlor-1,2-propandiol, který dalším sledem reakcí poskytuje jako konečný produkt glycerol.

Hydrolýzou 1,3-dichlor-2-propanolu v alkalickém prostředí, např. při dekontaminaci hydrolyzátů, lze zjednodušeně znázornit následujícím sledem reakcí:



XII = 1,3-dichlor-2-propanol; XIII = epichlorhydrin (chlormethyloxiran); XIV = 3-chlor-1,2-propandiol; XV = glycidol; XVI = glycerol

Epoxidy (jako epichlorhydrin a glycidol) vznikají z chlorhydrinů také v neutrálním a slabě alkalickém prostředí. Paralelně se vznikem glykolů a epoxidů (např. glycerolu a glycidolu) může v menším rozsahu docházet i ke vzájemné reakci epoxidu s glykolem za vzniku polyglykolů. Lze proto při degradaci di- a monochlorhydrinů glycerolu v hydrolyzátech očekávat nejen již diskutované produkty jako jsou epichlorhydrin, glycidol a glycerol, ale i diglycerol, popř. i vyšší polyglyceroly.

Vzhledem k relativně značné reaktivitě uvedených epoxidů by mohlo docházet nejen k jejich hydrolýze, ale i k reakcím s dalšími sloučeninami přítomnými v hydrolyzátech. Protože jednou z hlavních složek hydrolyzátů jsou chlorid amonný a aminokyseliny, nepřekvapuje, že v hydrolyzátech byly identifikovány jako produkty reakcí 3-chlor-1,2-propandiolu 3-amino-1,2-propandiol (produkt reakce s amoniakem) a řada glycerylamínokyselin (N-2,3-dihydroxypropylsubstituované aminokyseliny jako produkty reakce s aminokyselinami) (V e l í š e k et al., 1991a, b). Lze samozřejmě předpokládat i přítomnost příslušných derivátů odvozených od 2-chlor-1,3-propandiolu i amino-derivátů odvozených od 1,3-dichlor-2-propanolu a dalších chlorhydrinů glycerolu. Shora uvedené aminosloučeniny nepochybně reagují dále s karbonylovými sloučeninami ve smyslu reakcí Maillarda. Lze také očekávat reakce chlorhydrinů glycerolu s jinými složkami hydrolyzátů než jsou aminosloučeniny (fosfáty, alkoholy, karboxylové kyseliny aj.).

Množství 3-amino-1,2-propandiolu, který vzniká při reakci 3-chlor-1,2-propandiolu s amoniakem se pohybuje zpravidla v mezích kolem 30 mg/kg, vyšší množství je samozřejmě přítomno ve výrobcích s nižším obsahem vody jako jsou např. pasty (V e l í š e k et al., 1991a). Reakčních produktů 3-chlor-1,2-propandiolu s aminokyselinami (N-2,3-dihydroxypropylaminokyselin) bývá zhruba od 0,6 mg/kg (serin, threonin) do asi 90 mg/kg (glutamová kyselina) (V e l í š e k et al., 1991b). Údaje o fyziologických účincích reakčních produktů chlorhydrinů glycerolu s aminosloučeninami nebyly dosud publikovány.

Následné reakce chlorovaných analogů sterolů ani fyziologické účinky případných reakčních produktů těchto látek nebyly studovány.

Analytika chlorovaných sloučenin

Všechny z prací týkajících se identifikace dříve zmíněných chlorovaných sloučenin v hydrolyzátech bílkovin se samozřejmě zabývaly také jejich izolací a identifikací za využití moderních instrumentálních analytických metod. Jako vhodné pro uvedené účely se ukázaly být především chromatografické metody, zejména metoda plynové chromatografie, pro předběžnou separaci látek našly uplatnění i metody chromatografie na sloupci silikagelu a v tenké vrstvě silikagelu. K identifikaci jednotlivých sloučenin se osvědčila metoda $^1\text{H-NMR}$ spektrometrie a zejména metoda hmotnostní spektrometrie.

Až dosud byly publikovány pouze dvě metody stanovení chlorovaných sloučenin v hydrolyzátech. Pro stanovení 1,3-dichlor-2-propanolu byla vypracována metoda plynové chromatografie spočívající v destilaci sloučeniny s vodní párou, extrakci destilátu nepolárním rozpouštědlem a analýze zahuštěného extraktu (v a n R i l l a e r et al., 1989). Pro simultánní stanovení všech chlorhydrinů glycerolu i dalších chlorovaných sloučenin lze používat metodu, která spočívá v předběžném přečištění hydrolyzátů chromatografií na sloupci speciálního sorbentu, eluci látek rozpouštědly o různé polaritě, derivatizaci látek v zahuštěném eluátu (převedení na příslušné heptafluorbu-

tyrlestery) a jejich analýze plynovou chromatografií (van Bergen et al., 1991). V obou případech, jak u vzorků nederivatizovaných, tak i vzorků derivatizovaných, se s výhodou používá detektoru elektronového záchytu. Citlivost obou metod je dostatečná k tomu, aby bylo možné stanovit i koncentrace látek nižší než jsou maximální přípustné koncentrace.

Literatura

- FAESI, R. - WERNER, G. - WOLFENSBERGER, U.: Process for the production of seasoning. European Patent Application, EPO 226 769 A1, 1987.
- MAREČEK, V.: Bílkovinné hydrolyzáty potravinářské. Praha, Ministerstvo potr. průmyslu 1955.
- ŠILHÁNKOVÁ, L. - ŠMÍD, F. - ČERNÁ, M. - DAVÍDEK, J. - VELÍŠEK, J.: Mutagenicity of glycerol chlorohydrins and their esters of higher fatty acids present in protein hydrolysates. *Mutation Res.*, 103, 1982 : 77-81.
- BERGEN, C. A., van - COLLIER, P. D. - CROMINE, D. D. O. - LUCAS, R. A. - PRESTON, H. D. - SISSONS, D. J. : The determination of chloropropanols in protein hydrolysates. *J. Chromatogr.*, 1991.
- RILLAER, W. van - BEERNAERT, H.: Determination of residual 1,3-dichloro-2-propanol in protein hydrolysates by capillary gas chromatography. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.*, 188, 1989 : 343-345.
- VELÍŠEK, J.: Antinutriční a toxické látky vznikající v potravinách reakcemi přirozených složek s exogenními cizorodými látkami. *Potr. Vědy*, 10, 1992 : 317-334.
- VELÍŠEK, J. - DAVÍDEK, T. - DAVÍDEK, J. - HAMBURG, A.: 3-Chloro-1,2-propanediol derived aminoalcohol in protein hydrolysates. *J. Food Sci.*, 56, 1991a : 139-143.
- VELÍŠEK, J. - DAVÍDEK, T. - DAVÍDEK, J. - KUBELKA, V. - VÍDEN, I.: 3-Chloro-1,2-propanediol derived amino acids in protein hydrolysates. *J. Food Sci.*, 56, 1991b : 136-138.
- VELÍŠEK, J. - DAVÍDEK, - HAJŠLOVÁ, J. - KUBELKA, V. - JANÍČEK, G. - MÁNKOVÁ, B.: Chlorohydrins in protein hydrolysates. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.*, 167, 1978 : 241-244.
- VELÍŠEK, J. - DAVÍDEK, J. - KUBELKA, V.: Formation of $\Delta^{3,5}$ -diene and 3-chloro- Δ^5 -ene analogues of sterols in protein hydrolysates. *J. agric. Food Chem.*, 34, 1986 : 660-662.
- VELÍŠEK, J. - DAVÍDEK, J. - KUBELKA, V. - BARTOŠOVÁ, J. - TUČKOVÁ, A. - HAJŠLOVÁ, J. - JANÍČEK, G.: Formation of volatile chlorohydrins from glycerol, triacetin, tributyrin and hydrochloric acid. *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 12, 1979 : 234-236.
- VELÍŠEK, J. - DAVÍDEK, J. - KUBELKA, V. - JANÍČEK, G. - SVOBODOVÁ, Z. - ŠIMICOVÁ, Z.: New chlorine-containing organic compounds in protein hydrolysates. *J. agric. Food Chem.*, 28, 1980 : 1142-1144.
- WEBER, N.: Studies on intestinal absorption, distribution and metabolism of 3 β -chloro(4- 14 C)cholest-5-ene and 3 β -chloro(4- 14 C)stigmast-5-ene in mice. *Food Chem. Toxicol.*, 27, 1989 : 259-263.

Survey on organic chlorine-containing compounds occurring in protein hydrolysates

Organic chlorine-containing compounds that have been identified in protein hydrolysates arise from residual raw material lipids and hydrochloric acid. They can be divided into three main groups. The first group represents esters of glycerol chlorohydrins with higher fatty acids (esters of 1,3-dichloro-2-propanol, mono- and diesters of 3-chloro-1,2-propanediol), the second group includes free glycerol chlorohydrins (1,3-dichloro-2-propanol and 3-chloro-1,2-propanediol, their isomers 2,3-dichloro-1-propanol and 2-chloro-1,3-propanediol and analogues such as 1,3-dichloropropane etc.). The third group are chloro analogues of sterols (3-chloro-24-ethylcholest-5-ene derived from sitosterol and 3-chlorocholest-5-ene derived from cholesterol). The main contaminant of protein hydrolysates is 3-chloro-1,2-propanediol which occurs at levels of several hundreds of mg per kg.

Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

Pocta profesorů Vladimíru Kyzlinkovi

Vysoká škola zemědělská v Brně ocenila vynikající vědecké a pedagogické výsledky prof. dr. ing. Vladimíra Kyzlinka, DrSc., i jeho celoživotní sepětí s VŠZ v Brně udělením čestného doktorátu zemědělsko-lesnických věd. Slavnostní promoce se konala 11. prosince 1992 v aule VŠZ v Brně za účasti představitelů čs. vysokých škol a asi 150 hostů.

Profesor Kyzlinka se narodil 29. ledna 1915 v Brně, vystudoval reálku a v roce 1933 byl přijat ke studiu na Vysoké škole zemědělské v Brně. Studium dokončil na specializaci agrikulturní chemie v roce 1937 s vyznamenáním a již v průběhu studia začal pracovat na doktorské disertaci. Doktorát technických věd získal v roce 1938 z oboru agrochemie zaměřené na potraviny. V letech 1938 a 1939 pracoval na Ústavu analytické a agrikulturní chemie VŠZ v Brně jako nehonoraný asistent a po uzavření

českých vysokých škol odešel do závodů Biochema, a.s. v Modřicích u Brna, kde působil až do roku 1948 nejprve jako výzkumný chemik, později jako vedoucí laboratoří a nakonec jako vedoucí výzkumného oddělení.

V roce 1946 se na VŠZ v Brně prací „Poznatky a zkušenosti získané při studiu podmínek určujících jakost sušené zeleniny“ habilitoval pro obor Technologie zemědělského průmyslu a přednášel na této škole jako soukromý docent do roku 1948. Na podzim 1948 byl na VŠZ v Brně jmenován a ustanoven profesorem pro obor Konzervační technologie a působil na VŠZ v Brně do konce roku 1952. K 1. lednu 1953 byl spolu s prof. Prokšem, prof. Lomem a doc. Slavíčkem převeden na nově zřízenou fakultu potravinářské technologie Vysoké školy chemicko-technologické v Praze, kde byl profesorem konzervářské technologie až do odchodu do důchodu v roce 1983. Po celou dobu byl vedoucím katedry konzervářství a technologie masa, v určitých obdobích zastával funkce děkana fakulty a prorektora této vysoké školy.

Vědecké dílo prof. Kyzlinka je rozsáhlé a velmi uznávané a hodnocené u nás i v zahraničí. Známe jsou zejména jeho práce o stabilitě vitamínu C ve zpracovávané zelenině, studie k výrobě pektinových preparátů a k metodám analýzy pektinů a zejména propracování původního uceleného systému metod konzervace neúdržných potravin. Vytvořil vědeckou školu v plném smyslu tohoto pojmu, kterou trdají mnozí jeho žáci u nás a která byla akceptována i mezinárodně. Vývoj a budování Kyzlinkovy vědecké školy je zcela zřejmý z postupné řady jeho knižních monografií, která zahrnuje šest titulů počínaje „Konzervačními metodami“ (1951) a konče celostátní vysokoškolskou učebnicí „Teoretické základy konzervace potravin“ (1988). Prof. Kyzlink dosud dále publikoval 106 původních prací, z nichž 30 cizojazyčně, a mnoho odborných článků.

Prof. Kyzlink se významně prosadil v mezinárodním měřítku, především vydáním knihy „Principles of Food Preservation“ (Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York 1990). Velké uznání se mu dostalo pozváním do autorského kolektivu britské encyklopedie o potravinách a výživě, pro kterou zpracovat stať o charakteristice souborů chemický, enzymových a mikrobiologických dějů významných pro uchovávání potravin. Prof. Kyzlink byl jako vědec uveden v pátém vydání publikace „Who's Who in the World“ vydané v roce 1980 v Chicagu.

Spolu s nespornými vědeckými a pedagogickými kvalitami a výsledky prof. Kyzlinka mělo udělení čestného doktorátu vyjádřit i jeho celoživotní výborný vztah k Vysoké škole zemědělské v Brně. Za svého působení v Brně vykonal mnoho dobrého pro její úspěšný rozvoj, nadále jí obětavě a nezištně pomáhal z Prahy a účinně jí pomáhá i nyní. Ocenění si plně zaslouží a lze mu k němu upřímně blahopřát.

Prof. ing. Ivo Ingr, DrSc.

Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha

n a b í z í

informace o novinkách a trendech ve výrobě potravin, inovaci potravinářských výrobků, balení potravin, hodnocení kvality potravin apod.

z potravinářské databáze

FSTA - FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY ABSTRACTS

Databáze obsahuje přes
4000 tisíce anotovaných záznamů v anglickém jazyce,
které jsou shromažďovány od roku 1969

V databázi jsou zpracovány tyto hlavní oblasti světové a odborné literatury: potravinářská věda a technologie, potravinářské inženýrství, biotechnologie, hygiena a toxikologie potravin, balení, potraviny rostlinného a živočišného původu, kvasný a nápojový průmysl, přídavné látky.

Informace z databáze **FSTA** zajišťujeme
v různých formách počítačových výstupů:

- ❖ průběžné rešerše (SDI) na základě trvalých objednávek z měsíčních přírůstků databáze (seznam témat SDI zasíláme na vyžádání)
- ❖ retrospektivní rešerše s úplnou retrospektivou 23 let databáze na kompaktním disku, případně s časovým vymezením na 5 až 10 let na věcná témata (případně rešerše na autory, instituce, výrobce zařízení); rešerše jsou dodávány buď tištěné, nebo na disketách
- ❖ doplňující dialogové rešerše z posledních ročníků až do roku 1993 v systému GOLEM; databáze je dialogově zpřístupněna za období 1985 až 1993 s pravidelnou měsíční aktualizací

Vaše dotazy a objednávky zasílejte na adresu:

*Ústav zemědělských a potravinářských informací
Londýnská 55, 120 21 Praha 2
tel. 250 051-4, Fax 207 411*

OBSAH – CONTENTS

Strejček F., Pokorný J., Vierecklová M., Pokorný D., Holas J.: Relation between sensory attributes of flat crisp bread — Vztahy mezi výsledky jednotlivých ukazatelů sensorického hodnocení křehkého chleba . . .	81
Holadová K., Hajšlová J., Kocoourek V., Míšková H.: Rezidua daminozidu v jablečných produktech — Residues of daminozide in apple products	99
Takácsová M., Dudášová S., Hozová B., Rajniaková A., Minarovičová I.: Zmeny lipidov pri kombinovanej metóde konzervácie potravín s aplikáciou glycínu — Changes in the lipids at use of combined method of food preservation with the glycine application	111
Ledahudcová K., Kvasnička F., Velíšek J.: Stanovení 3-amino-1,2-propandiolu v hydrolyzátech bílkovin — Determination of 3-amino-1,2-propandiol in protein hydrolysates	121
Urbanová E.: Hodnocení metod stanovení počtu psychrotrofních bakterií v syrovém mléce — The evaluation of the methods of determination of a number of psychrotrophic bacteria in raw milk	135
Abid Ali M., Dodok L., Halášová G.: Reologické vlastnosti ciest z cícera — Rheological characteristics of doughs of whole grain chickpea flour	143

PŘEHLEDY — SURVEY

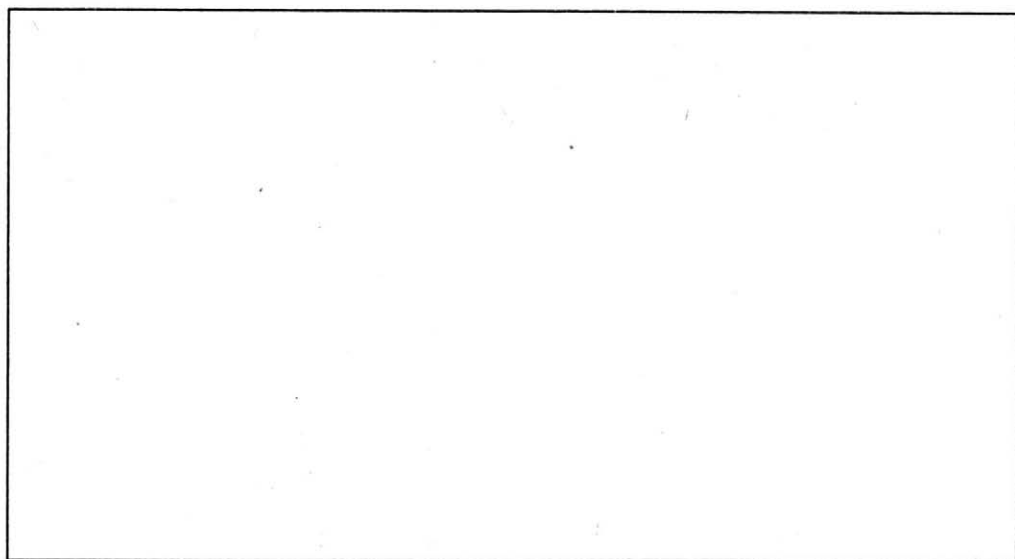
Velíšek J., Ledahudcová K.: Problematika organických sloučenin chloru v potravinářských hydrolyzátech bílkovin — Survey on organic chlorine-containing compounds occurring in protein hydrolysates	149
--	-----

Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

Ingr I.: Pocta profesoru Vladimíru Kyzlinkovi	158
---	-----

RECENZE

Kalač P.: Abdel - Fattah M. Rizk — Poisonous Plant Contamination of Edible Plants	134
---	-----



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 02/251 098 ♦ Sazba a tisk ÚZPI ♦ © 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, Hvoždanská 5 - 7, 149 00 Praha 4