

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH  
INFORMACÍ

**POTRAVINÁŘSKÉ VĚDY**  
**FOOD SCIENCES**

**5**

ROČNÍK 11  
PRAHA 1993  
ISSN 0332-0568

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD  
SLOVENSKÁ AKADÉMIA PÔDOHOSPODÁRSKYCH 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 (5) : 353-440

## VYUŽITÍ METOD MULTIVARIAČNÍ ANALÝZY K HODNOCENÍ KVALITY BEZINEK

Jan VELÍŠEK, Kamila MÍKOVÁ, Ludmila MAŠÁTOVÁ

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

---

U pěti klonů a dvou odrůd bezinek (*Sambucus nigra* L.) byly provedeny chemické a fyzikálně chemické analýzy. Získaný soubor 25 analytických údajů byl hodnocen za použití některých metod multivariační analýzy (metoda hlavních složky, shluková analýza). Výsledky těchto metod umožnily výběr konzervárensky hodnotných klonů, tj. klonů, jejichž vlastnosti (obsah sušiny, sacharidů, kyselin, kyseliny askorbové, anthokyanových barviv a aromatických látek) byly nejvíce podobné vlastnostem již zavedených kvalitních odrůd.

bez černý; chemické složení bezinek; multivariační analýza

---

Divoce rostoucí bez černý (*Sambucus nigra* L.) je v našem zeměpisném pásmu značně rozšířen. Jeho plody bezinky představují surovinu bohatou na intenzivně barvící anthokyanové pigmenty, sacharidy, organické kyseliny, minerální látky, třísloviny, pektiny, volné aminokyseliny a vitamin C. Bezinky mají i vysoký obsah aromatických látek, které jsou pro některé konzumenty senzoricky nepříjemné. Při zpracování bezinek je nevýhodou jejich malá velikost a také, že podléhají rychlé zkáze.

Nově šlechtěné kulturní odrůdy mají svůj základ v divoce rostoucím bezu černém. Šlechtěním se zvyšuje produkce i kvalita bezinek, zejména obsah anthokyanových barviv a vitamínu C. Cílem je i zvýšit obsah kyselin, což vede k poklesu pH a vyšší údržnosti bezinek. Oproti divokým bezinkám mají kulturní odrůdy vyrovnanou chuť i aroma.

Nutriční hodnota bezinek je vysoce ceněna. Důležitou složkou jsou sacharidy, především sacharosa. Jejich obsah je ovlivněn dobou sklizně, skladováním a používáním dusíkatých hnojiv. Při rozmrazování se výrazně zvyšuje obsah glukosy a fruktosy, vznikajících hydrolýzou sacharosy, z organických kyselin jsou zastoupeny především kyselina citronová, jablečná, vinná a pentanová (valerová). Hodnota pH bezinek bývá často vyšší než čtyři, což má negativní dopad na jejich údržnost. Obsah kyseliny askorbové je vysoký, mnohdy i vyšší než v citrusových plodech. Dlouhodobým skladováním i při rozmrazování se snižuje. Obsah tříslovin je vyšší než u jablek (K l e i n, 1932; M o r c k, 1978).

Ve srovnání s ostatními druhy ovoce obsahují bezinky značné množství dusíkatých látek (B a r e š, 1954). Velký podíl tvoří nízkomolekulární dusíkaté látky - amidy a zejména aminokyseliny, z nichž 40 až 50 % připadá na esenciální aminokyseliny (K ü n s c h, T e m p e r l i, 1976). Z minerálních látek jsou nejvíce zastoupeny hořčík, vápník, mangan a fosfor (B a r e š, 1954).

Nezralé plody obsahují heteroglykosid sambunigrin, jehož hydrolýzou vzniká kyanovodík. Další nežádoucí složkou nezralých bezinek je alkaloid koniin (J i r á s e k, 1957).

Ze senzorického hlediska jsou nejvýznamnější těkavé látky, z nichž významný podíl připadá na kyselinu valerovou a na neutrální těkavé složky jako je ethanol, 2-hexanol, 3-hexen-1-ol a benzylalkohol (P r i l l i n g e r et al., 1977).

Metodami plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (D a v í d e k et al., 1982) bylo identifikováno 19 sloučenin, z nichž převažovaly karbonylové sloučeniny fenylacetaldehyd (35 %) a 2-furankarboxaldehyd (18 %). Na kvalitativní složení těkavých látek má vliv skladování a technologie zpracování bezinek (H o r á l k o v á, 1982). Senzoricky i technologicky významnými látkami jsou anthokyanová barviva, kterých bylo v bezinkách identifikováno pět (odvozených od kyanidinu):

kyanidin-3-0- $\beta$ -sambubiosid (R e i c h e l, R e i c h w a l d, 1960),

kyanidin-3-0- $\beta$ -D-glukosid (B e r g m a n n, 1979; H u l m e, 1970),

kyanidin-3-0- $\beta$ -sambubiosid-5-0- $\beta$ -D-glukosid (H u l m e, 1970; B e r g m a n n, 1979),

kyanidin-3-0- $\beta$ -L-rhamnoglukosid (L i k e n s, N i c k e r s o n, 1964),

kyanidin-3,5-0- $\beta$ -D-diglukosid (L i k e n s, N i c k e r s o n, 1964).

Z technologického hlediska je významným faktorem stabilita anthokyanů. K reverzibilním změnám dochází při změnách pH a při adici oxidu siřičitého. Mezi nejzávažnější ireverzibilní změny patří hydrolýza, oxidace a reakce neenzymového hnědnutí.

Cílem práce bylo srovnání několika klonů bezu černého vyšlechtěných ve Výzkumném ústavu ovocných a okrasných dřevin v Bojnici, odrůdy Hashberg vyšlechtěné ve Výzkumném ústavu v Klosterneuburgu v Rakousku a divoce rostoucích bezinek s ohledem na zastoupení hlavních nutričně a senzory významných látek.

## MATERIÁL a METODY

Hodnoceny byly bezinky dodané Výzkumným ústavem ovocných a okrasných dřevin v Bojnici. Vzorky byly skladovány od září do února při teplotě -18 °C. Před analýzou byly bezinky rozmrazeny a odstopkovány.

Refraktometrická sušina byla měřena ručním cukerným refraktometrem (Meopta, Praha). Hodnota pH a titrační kyselost s potenciometrickou indikací při

pH 8,1 (D o b i á š, M í k o v á, 1983) byly měřeny přístrojem Acidimetr 523 (Druopta, Praha). Veškeré redukující cukry a sacharosa byly stanoveny před inverzí a po ní (D o b i á š, M í k o v á, 1983). Kyselin askorbová byla stanovena titrací 2,6-dichlorfenolindofenolem s potenciometrickou indikací (D o b i á š, M í k o v á, 1983) za použití pHmetru OP-211/1 (Radelkis, Budapešť). K měření obsahu anthokyanů, degradačního indexu, barevné mohutnosti a barevného příspěvku polymerů a tříslovin byly použity postupy, které navrhl W r o l s t a d (1976).

Ke zjištění obsahu anthokyanů se používala diferenční metoda měření absorbance v pufrech o hodnotách pH 1,0 a 4,5. Absorbance se měřila při vlnové délce 510 nm a pro korelaci kalnosti se odečítala při 700 nm. Výsledky byly vyjádřeny v množství kyanidin-3-glukosidu. K výpočtu degradačního indexu (DI) se využilo hodnot absorbance při pH 1,0 a rozdílu absorbancí při pH 1,0 a 4,5. Jejich poměr udává hodnotu DI. Barevná mohutnost (BM) byla stanovena při pH 3,0 jako součet absorbancí při 420 nm a 520 nm. Odečtením absorbance při 700 nm byla provedena korekce na případný zákal šťávy. Šťáva byla zředěna pufrem o pH 3,0 na požadovanou hodnotu absorbance. Po smíchání 9 ml tohoto roztoku s 0,6 ml vody se proměřilo absorpční spektrum a vypočítala se barevná mohutnost. Při měření barevného příspěvku polymerů (BPP) byla voda nahrazena 0,6 ml 20% dvojsiřičitanu draselného. Barevný příspěvek tříslovin (BPT) se počítal jako poměr barevného příspěvku polymerů a barevné mohutnosti. Všechny vzorky byly proměřovány vždy po jednohodinovém stání nutném k ustavení rovnováhy (ve třech paralelních měřeních, z nichž byl vypočítán aritmetický průměr). Měření probíhalo na spektrofotometru Specord UV/VIS (Carl Zeiss, Jena).

Senzoricky významné látky byly stanoveny podle postupu, který popsali M í - k o v á et al. (1984): Do 1000ml varné baňky bylo naváženo 50 až 300 g bobulí a stejné množství vody. Bezinky se vařily v modifikované Likensově-Nickersonově aparatuře čtyři hodiny. Těkavé látky byl jímány do baňky se 100 ml diethyleteru s přídavkem 0,5 ml 0,1% (hmotn.) roztoku amylbutyrátu jako vnitřního standardu. Extrakt byl vysušen bezvodým síranem sodným a zahuštěn pomocí Snyderovy kolony při 40 °C na objem asi 2 ml. Vlastní stanovení bylo prováděno plynovou chromatografií na přístroji HP 5880A (Hewlett - Packard) se skleněnou náplňovou kolonou 2400 x 2 mm s 10% Carbowaxem 20 M na nosiči Chromaton N-AW-DMCS (zrnění 0,125 až 0,16 mm). Teplota plamenového ionizačního detektoru byla 300 °C, teplota injektoru 250 °C. Teplota kolony byla lineárně programována od 80 do 230 °C (6 °C/min). Jako nosný plyn byl používán dusík s průtokem 30 ml/min. Pro multivariační analýzu dat byl použit program Statgraphics 5.1 (STSC, USA).

## VÝSLEDKY a DISKUSE

Výsledky některých chemických a fyzikálně-chemických analýz osmi porovnávaných vzorků bezinek jsou shrnuty v tab. I.

## I. Výsledky analýz – Analytical results

Proměnná č. <sup>1</sup>	Vzorek <sup>2</sup>								Průměr <sup>3</sup>
	A	B	C	D	E	F	G	H	
1	24	22,8	33	34	36	82,9	22,3	2,8	32,23
2	9,6	67,4	151	135	217	134	53,9	4,4	96,53
3	282	176	317	272	598	392	283	32	294,00
4	340	101	56,7	79	159	1340	68,9	8,9	296,19
5	26	12,6	3,2	4	11,8	25,6	3,0	1,4	10,95
6	6,2	3,5	5,9	11	15,2	31,4	2,2	1,2	9,57
7	12,4	5,4	4,2	8,5	8,4	66,3	6,6	7,0	14,83
8	42,3	23,2	15,3	13,4	29,2	246	24,6	40	54,25
9	96,9	43	81	66	166	233	268	46,4	125,04
10	4,7	2,7	1,6	2,3	6,0	9,2	3,1	2,2	3,97
11	3,1	25,1	55,6	15	6,2	202	28,8	5,4	42,66
12	44,8	34,4	46,0	10,1	4,4	384	9,6	6,7	67,50
13	53,2	41	50	23,4	10,2	394	10,3	8,3	73,80
14	17,3	11,7	12,6	13	11,5	15,7	14,5	11,3	13,45
15	3,7	3,7	4,1	3,7	4,1	3,7	3,8	4,2	3,87
16	0,7	0,8	0,6	0,8	0,5	0,8	0,8	0,5	0,68
17	15,0	10,7	11,1	11,1	10,7	14,2	11,8	10,4	11,89
18	6,2	4,4	4,9	5,1	4,3	4,5	5,0	4,7	4,89
19	8,8	6,3	5,2	6,0	6,4	9,8	6,8	5,7	6,87
20	26,1	33,4	19,6	40,1	28,7	43,5	35,3	15,8	30,28
21	5,0	3,8	4,7	5,3	4,3	3,2	4,2	2,8	4,15
22	1,1	1,2	1,2	1,1	1,2	1,2	1,1	1,1	1,15
23	513	750	385	594	285	536	320	200	447,81
24	75	153	97,5	90	50	61,3	60	35	77,66
25	14,6	20,3	25,3	15,2	17,5	11,4	18,8	17,5	17,58

A = klon<sup>4</sup> č. 5; B = klon č. 6; C = klon č. 16; D = klon č. 17; E = klon č. 18; F = odrůda<sup>5</sup> Sambo; G = odrůda Hahsberg; H = divoké bezinky<sup>6</sup>

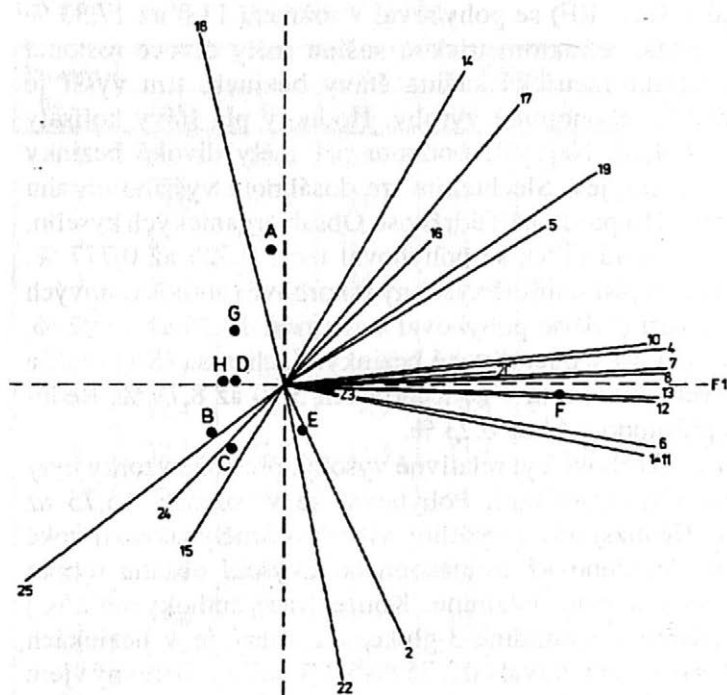
1 = pík č. 1; 2 = pík č. 3; 3 = pík č. 8; 4 = pík č. 12; 5 = pík č. 14; 6 = pík č. 16; 7 = pík č. 20; 8 = pík č. 30; 9 = pík č. 44; 10 = pík č. 48; 11 = pík č. 62; 12 = pík č. 74; 13 = pík č. 76; 14 = RF; 15 = PH; 16 = TA; 17 = TS; 18 = RS; 19 = SA; 20 = AA; 21 = AC; 22 = DI; 23 = BM; 24 = BPP; 25 = BPT

<sup>1</sup>number of variable; <sup>2</sup>sample; <sup>3</sup>average; <sup>4</sup>clone; <sup>5</sup>cultivar; <sup>6</sup>wild berries

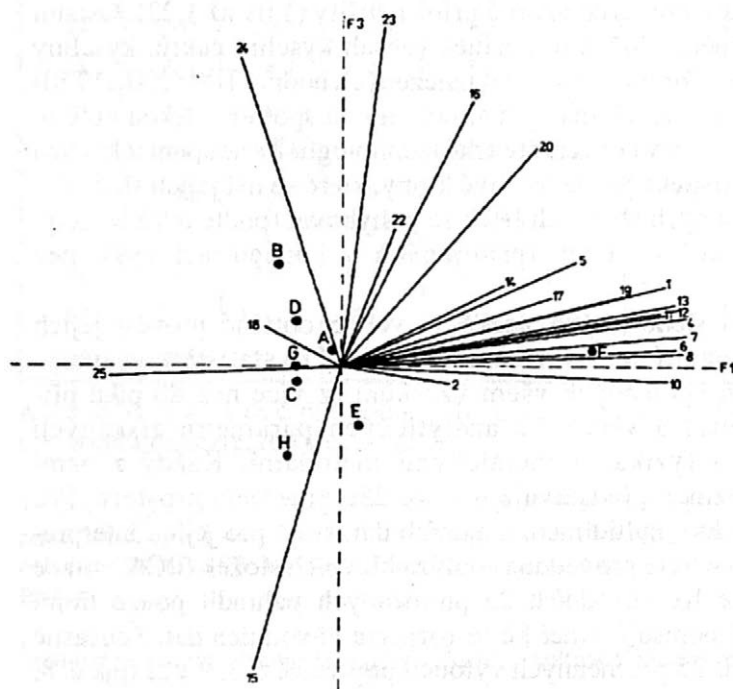
Obsah refraktometrické sušiny (RF) se pohyboval v rozmezí 11,3 až 17,33 % s průměrem 13,45 %. Nejnížší refraktometrickou sušinu měly divoce rostoucí bezinky. Čím vyšší je refraktometrická sušina šťávy bezinek, tím vyšší je i výtěžnost, což má dopad na ekonomiku výroby. Hodnoty pH šťávy kolísaly v rozmezí hodnot 3,66 až 4,18. Nejvyšší hodnotu pH měly divoké bezinky (pH 4,18), což je pro ně typický jev. Šlechtěním lze dosáhnout vyššího obsahu kyselin, a tím snížit hodnotu pH a prodloužit údržnost. Obsah organických kyselin, vyjádřený jako kyselina citronová (TA), se pohyboval mezi 0,525 až 0,777 %. Vyšší obsah kyselin přispívá k vyšší stabilitě kyseliny askorbové i anthokyanových barviv. Obsah veškerých cukrů (TS) se pohyboval v rozmezí 10,39 až 15,02 %, přičemž nejméně cukrů obsahovaly opět divoké bezinky. Sacharosa (SA) tvořila více než polovinu celkových cukrů, a to v koncentracích 5,70 až 8,79 %. Redukujících cukrů (RS) bylo přítomno 4,44 až 6,23 %.

Nalezený obsah kyseliny askorbové byl relativně vysoký, přestože vzorky byly analyzovány až po půlročním skladování. Pohyboval se v rozmezí 15,75 až 40,05 mg ve 100 g vzorku. Nejnížší obsah kyseliny askorbové měly znovu divoké bezinky, šlechtěním bylo dosaženo až trojnásobného zvýšení obsahu tohoto nutričně i technologicky významného vitamínu. Koncentrace anthokyanů (AC) byla vyjádřena jako koncentrace kyanidinu-3-glukosidu, který je v bezinkách hlavním anthokyanem. Obsah se pohyboval od 2,75 do 5,3 % sušiny. Barevný vjem však není dán pouze obsahem anthokyanů, ale závisí též na stupni jejich chemických změn, které lze vyjádřit jako degradační index (DI), barevnou mohutnost (BM), barevný příspěvek polymerů (BPP) a barevný příspěvek tříslovin (BPT). Hodnoty DI se u sledovaných vzorků příliš nelišily (1,09 až 1,23). Ostatní hodnoty jsou silně ovlivněny složením bezinek (obsah kyselin, cukrů, kyseliny askorbové), což je zřejmé z širokého rozmezí nalezených hodnot BM (200 až 750) i BPP (35 až 152). Aroma bezinek má významný vliv na spotřebitelskou oblibu, a tím i na využitelnost bezinek v konzervářské technologii. Zastoupení těkavých látek je zároveň charakteristické pro jednotlivé klony, které se liší jejich složením i množstvím. Počet přítomných těkavých látek se pohyboval (podle odrůdy, resp. klonu) od 47 do více než 80 látek (přítomných v koncentraci vyšší než 0,001 %, m/m).

Vzhledem k množství sledovaných znaků je velice obtížné provést jejich vzájemné srovnání bez použití multivariačních metod. Pro statistickou analýzu bylo využito 13 píků společných všem vzorkům (z více než 80 píků příslušných chromatogramů) a všech 12 analytických parametrů získaných analýzou chemickými a fyzikálně-chemickými metodami. Každý z osmi hodnocených vzorků bezinek představuje bod ve 25rozměrném prostoru. Pro redukci komplexnosti těchto multidimenzionálních dat, resp. pro jejich interpretaci a možnost vizualizace byla provedena analýza hlavních složek (PCA, rotace Varimax). Ukázalo se, že lze původních 25 proměnných nahradit pouze třemi hlavními složkami, které popisují téměř 86 % rozptylu původních dat. Současně lze ze souboru původních 25 proměnných vyloučit proměnné č. 3, 9 a 21 (pík č. 8,



1. Výsledky PCA v osách první a druhé hlavní složky – PCA on the first and the second principal components axes



2. Výsledky PCA v osách první a třetí hlavní složky – PCA on the first and the third principal components axes

pík č. 44 a obsah anthokyanů), jejichž komunality byly menší než 0,5 (komunality ostatních proměnných se pohybovaly od 0,54 do 0,99). Na obr. 1 jsou znázorněny výsledky PCA v osách první a druhé hlavní složky (71,6 % rozptylu původních dat), na obr. 2 jsou uvedeny výsledky PCA v osách první a třetí hlavní složky (68,2 %). Jak je zřejmé z obou obrázků, je většina z osmi analyzovaných vzorků v jednom shluku, zatímco bezinky označené F, B a A se od ostatních liší. Z porovnání obr. 1 a 2 je dále patrné, že k odlišení vzorku F od ostatních vzorků nejvíce přispívají proměnné č. 6, 7, 12 a 13, tedy obsah těkavých látek reprezentovaných píky č. 16, 20, 74 a 76. Odlišení vzorku F je tedy určováno vysokým obsahem těkavých látek, odlišení bezinek pak především proměnnou č. 15 (hodnotou pH).

Současně jsou zřejmé vztahy mezi jednotlivými proměnnými. Hodnota RF samozřejmě kladně koreluje s obsahem některých cukrů, s obsahem sacharosy a také s obsahem celkových kyselin, negativně koreluje např. pH s obsahem celkových kyselin a obsah sacharosy s hodnotou BPT. Znamená to tedy např., že bude-li obsah sacharosy ve vzorku vyšší než průměr, bude vyšší než průměr i hodnota BPI apod.

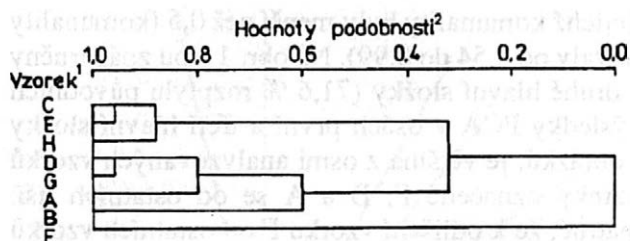
Je rovněž patrný význam 1. hlavní osy, která je určována hlavně těkavými složkami (proměnné č. 6, 8 a 10) v kladném směru a proměnnými č. 18 a 25 (obsah redukcujících cukrů, BPT) v záporném směru, analogicky lze interpretovat význam dalších hlavních os.

Hierarchická shluková analýza umožnila ještě více zprůhlednit vzájemnou příbuznost mezi vzorky (tab. II, obr. 3). Od všech ostatních se nejvíce liší vzorek F. Vzájemně podobné jsou dvě skupiny vzorků, a to vzorky B, A, G, D a vzorky H, E, C. V první skupině vzorků se od ostatních nejvíce liší vzorek B, pak vzorek A a vzorky D a G nelze rozlišit. Ve druhé skupině se nejvíce liší vzorek H, vzorky E a C nelze vzájemně rozlišit.

## II. Přifazení vzorků do shluků – Cluster membership of samples

Vzorek <sup>1</sup>	Počet shluků <sup>2</sup>					
	7	6	5	4	3	2
A	1	1	1	1	1	1
B	2	2	2	2	1	1
C	3	3	3	3	2	1
D	4	4	4	1	1	1
E	3	3	3	3	2	1
F	5	5	5	4	3	2
G	6	4	4	1	1	1
H	7	6	3	3	2	1

<sup>1</sup>sample; <sup>2</sup>number of clusters



3. Dendrogram znázorňující výsledky shlukové analýzy – Dendrogram showing the results of cluster analysis

<sup>1</sup>sample; <sup>2</sup>similarity values

Od všech ostatních bezinek se tedy nejvíce liší konzervářensky hodnotná odrůda Sambo (vzorek F). Značně odlišné jsou také klony č. 6 a 5 (vzorky B a A). Konzervářensky hodnotné odrůdění Hashberg (vzorek G) je nejpříbuznější klon č. 17 (vzorek D), dosti podobné jsou také klony č. 5 a 6 (vzorek A a B), bezinkám (vzorek H) se podobají klony č. 18 (vzorek E) a č. 16 (vzorek C).

### Literatura

- BAREŠ, J.: Výzkum divoce rostoucích druhů ovoce vzhledem k jejich nutriční a technologické hodnotě. [Závěrečná zpráva.] Praha, VÚPT 1954.
- BERGMANN, R.: Composition of black elderberry beverages. *Flüssiges Obst.*, 46, 1979 : 8-12.
- DAVÍDEK, J. - PUDIL, F. - VELÍŠEK, J. - KUBELKA, V.: Volatile constituents of elder (*Sambucus nigra* L.). 2. Berries. *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 15, 1982 : 181-182.
- DOBIÁŠ, J. - MÍKOVÁ, K.: Studijní návody pro laboratorní cvičení z technologie neúdržných potravin. Část II. Praha, VŠCHT 1983.
- HORÁLKOVÁ, M.: Sensoricky významné látky bezinek. [Diplomová práce.] Praha, 1982. - Vysoká škola chemicko-technologická.
- JIRÁSEK a kol.: Naše jedovaté rostliny. Praha, SNTL 1957.
- KLEIN, G.: *Handbuch der Pflanzenanalyse*. Wien, Verlag von Julius Springer 1932.
- KÜNSCH, V. - TEMPERLI, A.: Black elder - a food? *Schweiz. Z. Obst u. Weinb.*, 112, 1976 : 256-259.
- LIKENS, S. T. - NICKERSON, G. B.: Detection of certain hop oil constituents in brewing products. *Amer. Soc. Brew. Chem. Proc.*, 5, 1964 : 5-13.
- MÍKOVÁ, K. - HAVLÍKOVÁ, L. - VELÍŠEK, J. - VÍDEN, I. - PUDIL, F.: Flavour-significant neutral components of elderberries and elderberry products. *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 17, 1984 : 311-314.
- MORCK, H.: *Drogenkunde*. Stuttgart, Georg Thieme Verlag 1978.
- PRILLINGER, F. - WEISS, J. - MANDER, H.: Influence of aeration and heart treatment on the volatile substances contained in elderberry juice. *Mitt. Rebe, Wein, Ostbau u. Früchteverwertung*, 21, 1971 : 461-468.
- REICHEL, L. - REICHWALD, W.: Pigment of the black elderberry. *Naturwissenschaft*, 47, 1960 : 40-41.
- WROLSTAD, R. E.: Food chemistry from a food technologist's viewpoint. *Stat. Bull. Agric. Exp. Stat., Oregon State Univ.*, 624, 1976 : 16-20.

Došlo dne 10. 7. 1992

J. Velišek, K. Míková, L. Mašátová  
 (Institute of Chemical Technology, Praha, Czech Republic)

### Use of multivariate methods for evaluating the quality of elderberries

Eight different elderberries were analyzed by chemical and physico-chemical methods. Thirteen GC peaks (out of more than 80 peaks) representing the aroma compounds of elderberries occurring in all chromatograms were chosen for the statistical analysis together with twelve analytical parameters obtained by chemical and physicochemical methods of analysis in elderberries (Tab. I). To reduce the complexity of these multidimensional data (each sample of elderberries is seen as a point in 25-space and to enable to visualize and interpret the achieved array of data, principal components analysis (PCA) was carried out on this original data set. PCA showed that five factors were needed to describe the correlation structure. The standard deviations of the residuals for each variable showed that three variables participated in this model to a small extent. Hence, these variables were deleted and the cluster analysis and a new PCA analysis was made on the reduced data matrix consisting of only twenty-two variables.

These new data were analyzed by several multivariate methods. In the hierarchical cluster analysis of samples, the lengths of the vectors between samples in the multidimensional data space were calculated. Those samples that were located near other samples are represented as joining together with the nearby samples toward the left side of the figure (Table II, Fig. 3) and those that are less related join together more to the right. It can be seen for example that the samples form two basic groups. The first of these groups comprises samples B, A, G, D and the second the samples C, E, H. The sample F is the less similar to the others in the first group as well as in the whole set of samples. It means that clones no. 6, 5 and 17 are similar to the Hashberg variety and clones no. 16 and 18 are similar to wild berries. The most similar pairs of samples are the samples G, D and E, C. In other words, the Sambo variety having very dark colour, low pH value of the juice, high ascorbic acid content and high levels of the volatile flavour-active compounds, is similar to the first basic group of berries. This variety has a certain similarity to clones no. 6 and 5.

PCA carried out on this reduced data set (Varimax rotation was used) yielded the components loading matrix, communalities, associated eigenvalues and variances. Only the components loadings of the first three principal components, having eigenvalues greater than unity, were used. This three-component solution accounts for almost 86 % of the variance of the reduced data set (the communalities of the variables range from 0.54 to 0.99) providing thus a useful insight into the interrelationships existing within this set of analytical data.

Fig. 1 shows the components loadings of the original variables and the corresponding component scores for all eight elderberries on the first two principal component axes (which account for approximately 72 % of the variance in the data set). Fig. 2 shows the components loadings and scores for the eight samples on the first and the third principal component axes, respectively. It can be clearly seen that whilst the majority of samples are clustered together, samples F, B and A are distributed away from the main group.

The meaning of the first principal axis (on the right) is given mainly by variables 7, 8, 12, 13 and by variables 18, 25 (on the left). The same prevails for the second principal

axis and other variables. The description of the samples is summarized by two new independent variables (principal components). Then wild elderberries are the most endowed in variables 15, 18, 24 and 25, sample F in variables 12 and 13, etc.

The results of multidimensional data analysis carried out on eight elderberry samples have shown that the most interesting clones are clones 5, 6 and 17 that resemble the widely used berries of the varieties Sambo and Hashberg. These varieties have several valuable attributes suitable for industrial processing.

#### elderberry; chemical composition of elder berries; multivariate analysis

## STANOVENIE SACHARÍNU V POŽÍVATINÁCH METÓDOU KAPILÁRNEJ IZOTACHOFORÉZY A DERIVAČNEJ SPEKTROFOTOMETRIE

Milan SUHAJ

Výskumný ústav potravinársky, Priemysel'ná 4, 820 06 Bratislava

V práci sú uvedené nové analytické modifikácie stanovenia sacharínu v dia nealkoholických nápojoch, sirupoch, práškových nápojoch a v stolových sladidlách. Vypracovali sme jednoduchú a rýchlu metódu derivačnej spektrofotometrie využívajúcej 4. deriváciu absorpčného spektra pri 236 nm, ktorá umožňuje kvantitatívne stanovenie sacharínu na úrovni normy povolenej koncentrácie v uvedených výrobkoch. Výťažnosť stanovenia sa pohybovala od 94 do 105 %. Medza detekcie pre štandardný roztok bola zistená pri 0,5 mg/l. Pri kapilárnej izotachoforéze boli použité komerčne dostupné elektrolyty, ktoré oproti doteraz využívaným umožňujú realizovať stanovenie rýchlejšie a lacnejšie.

sacharín; kapilárna izotachoforéza; derivačná spektrofotometria; analýza v požívatínach

Sacharín sa už viac ako sto rokov využíva ako neenergetické syntetické sladidlo. V súčasnosti patrí k najvyužívanejším náhradným nesacharidickým sladidlám pri výrobe požívatín. Vzhľadom k doteraz nedoriešeným problémom jeho zdravotnej neškodnosti je toto sladidlo dosť často predmetom legislatívnych zmien v oblasti jeho využitia ako aditívnej látky v potravinárskom priemysle. Záväzná opatrenia (1977), týkajúce sa hygienických požiadaviek na cudzorodé látky v požívatínach, uvádzajú najvyššie prípustné množstvo sacharínu 45 mg/kg v dietetických požívatínach a nápojoch, 150 mg/kg v sirupoch a žuvačkách a 2000 mg/kg v diabetických pekárskych a cukrárskych výrobkoch a práškových nápojoch. V zahraničí sú v podobných výrobkoch povolené podstatne vyššie obsahy tohto syntetického sladidla.

V súčasnosti najvyužívanejšími analytickými metódami stanovenia sacharínu v požívatínach sú časovo a finančne pomerne náročné chromatografické metódy, najmä GLC a HPLC. Pri stanovení plynovou chromatografiou sa sacharín pomocou diazometánu prevádza na prchavejší derivát, pri kvapalinovej chromatografii väčšina modifikácií využíva kolóny plnené reverznou fázou C<sub>18</sub>, pričom sa ako elučné činidlá využívajú vodné roztoky metanolu alebo acetonitrilu s upravenými hodnotami pH (Ondroušek et al., 1990; Veerabhadrarta et al., 1988; Lawrence, Charboneau, 1987; Zache, Grundig, 1987; Moryasu et al., 1989). Pomerne komplikované sú tiež gravimetrická, subli-

mačná, diferenčná pulzná polarografická a iné metódy stanovenia sacharínu v potravinách podľa AOAC (1984) a podobné metódy sú tiež uvedené v našich analytických príručkách. Z perspektívnych elektro-separačných metód boli v rámci kapilárnej izotachofórey (Z a c h e, G r u n d i g, 1987) vypracované modifikácie využívajúce vo vodiacom elektrolyte vedľa  $\text{Cl}^-$ , hydroxypropylmetyl celulózu, Triton X-100 a aminometylpropándiol, resp. glycyglycín a ako zakončujúci elektrolyt L-alanín s hydroxidom bárnatým, resp. kyselinu benzoovú. Čas analýzy sacharínu v uvedených systémoch dosahuje skoro jednu hodinu. Zo spektrofotometrických metód stanovenia sacharínu v požívatinách možno využiť modifikáciu, ktorú opísal B a s i l e (1967), podľa ktorej sa sacharín stanoví spektrofotometricky pri 278 nm v chloroformovom extrakte, čomu predchádza eliminácia rušivých zložiek ich oxidáciou s  $\text{KMnO}_4$  v alkalickom prostredí. H u s s e i n et al. (1976) stanovili sacharín po extrakcii okyslenej vzorky, odstránení činidla a rozpustení v 1%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  spektrofotometriou pri dvoch vlnových dĺžkach s výťažnosťou 83 až 113 %. G e p p e r t (1987) uvádza možnosti využitia matematického spracovania spektrofotometrických meraní na prístroji Specord M 40, pre prípad stanovenia sacharínu v nealkoholických nápojoch po riedení v tmivých roztokoch.

V predložennom príspevku nadväzujeme na predchádzajúce práce spektrofotometrického stanovenia sacharínu vo vybraných požívatinách, pričom pomocou metódy derivačnej spektrofotometrie zjednodušujeme uvedené analýzy na stanovenie sacharínu priamo vo vzorkách. Súčasne sme na stanovenie sacharínu vyvinuli novú modifikáciu metódy kapilárnej izotachofórey, ktorej výsledky stanovenia tu tiež prezentujeme a ktorú sme využili aj na testovanie a porovnanie oboch metód.

## MATERIÁL a METÓDY

Sacharín bol stanovený metódou derivačnej spektrofotometrie a kapilárnou izotachofórezou vo vzorkách nealkoholických nápojov, práškových nápojov, sirupov, niektorých dia výrobkov a v stolových sladidlách z obchodnej siete.

Pri derivačnej spektrofotometrii sa využila matematická derivácia absorpčného spektra vzoriek, ktorá umožnila plné analytické využitie oproti priamemu spektrofotometrickému stanoveniu, pretože v derivovaných spektrách sú viac zvýraznené a lepšie rozlíšené spektrálne pásy jednotlivých zložiek a súčasne účinne eliminované pozadie ako aj negatívny vplyv rozptylu a zákalu na stanovenie.

*Podmienky stanovenia:* rozsah vlnových dĺžok – 210 až 250 nm; spektrálna šírka štrbiny – automatická regulácia; integračný čas – 3 s; zosilnenie – 1; rýchlosť zápisu – 1 mm/s.

Absorpčné spektrá boli merané a uložené do programovej pamäti prístroja Specord M 40 (Carl Zeiss Jena) pomocou programovej kazety Data Handling I. Po korekcii matematickým odčítaním spektra slepého stanovenia, boli spektrá derivované do 4. stupňa a násobené faktorom 20 (zosilnenie signálu). Analytické boli využité hodnoty derivovaného signálu pri 236 nm. Analytická čiara pre koncentračný rozsah 0 až 10 mg/l mala po lineárnej regresii tvar:

$$y = 26,46x + 0,085$$

kde:  $y$  - koncentrácia sacharínu [ $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ]

$x$  - hodnota 4. derivácie pri 236 nm násobená faktorom 20

Ako štandard bol využitý monohydrát sodnej soli sacharínu (Aldrich) sušený 4 h pri 120 °C. Vzorky nealkoholických nápojov boli pred meraním riedené 10krát, vzorky práškových nápojov pripravené podľa návodu a riedené v uvedenom pomere. Ostatné vzorky boli homogenizované, filtrované a riedené tak, aby koncentrácia sacharínu v kremennej kvete hrúbky 1 cm nepresiahla 10 mg/l. Vzorky sýtené oxidom uhličitým boli odplynené ultrazvukom (1 min).

Pri stanoveniach sacharínu metódou kapilárnej izotachoforézy sme využili nový systém elektrolytov nasledujúceho zloženia: vodiaci elektrolyt: 0,01 mM HCl +  $\beta$ -alanín + 0,1% MHEC (metylhydroxyetylcelulóza), pH = 3; zakončujúci elektrolyt: kyselina citrónová ( $c = 5 \text{ mmol/l}$ ).

Hnací prúd v predseparačnej kapiláre bol 350  $\mu\text{A}$ , v analytickej 45  $\mu\text{A}$ . Na detekciu bol použitý konduktometrický a UV detektor pri 254 nm. Vzorky boli pripravené ako v predchádzajúcom prípade.

## VÝSLEDKY a DISKUSIA

Zo spektrofotometrického hľadiska má sacharín veľmi špecifický priebeh absorpčného spektra a výrazne sa odlišuje od spektier prevažnej väčšiny ostatných zložiek požívatín. Tento priebeh je v derivovanej podobe ešte výraznejší a umožňuje kvantitatívne stanovenie sacharínu v rôznych matriciach (obr. 1). Rušivý vplyv absorbujúceho pozadia sa darí matematicky eliminovať až pri vyššom stupni derivovania, ako tomu nasvedčujú výsledky testovania vplyvu stupňa derivácie na správnosť stanovenia (tab. I). Z toho sa dá usudzovať, že matematický priebeh spektier absorbujúceho pozadia vo vzorkách bol vo väčšine prípadov nelineárny a možno ho opísať funkčnými závislosťami vyšších poriadkov.

Správnosť metódy derivačno-spektrofotometrického stanovenia (4. poriadku) sacharínu sme testovali v nealkoholických nápojoch, ktoré pôvodne sacharín neobsahovali. Výsledky stanovenia po štandardnom prídavku na úrovni povolenej koncentrácie v nápojoch, resp. v sirupoch uvádzame v tab. II. Vo väčšine prípadov je výťažnosť stanovenia veľmi dobrá, trochu zvýšená v bezkofeínovom nápoji Gold Cola a v prípade nápoja Perla bolo stanovenie rušené pre vyšší obsah kyseliny sorbovej (tab. III). Okrem týchto dvoch prípadov sa výťažnosť stanovenia pohybovala od 93,8 do 105,3 % a v priemere dosiahla 99,9 %. Pri štandardnom prídavku na úrovni 10 mg/l sa výťažnosť stanovenia trochu zvýšila (tab. I), pričom medza stanovenia v prípade práškového citrónového nápoja Tina bola zistená pri 5 mg/l. Medza detekcie pre štandardný roztok sacharínu bola zistená na úrovni 0,5 mg/l. Výsledky testovania správnosti metódy uvedené v tab. III naznačujú, že okrem

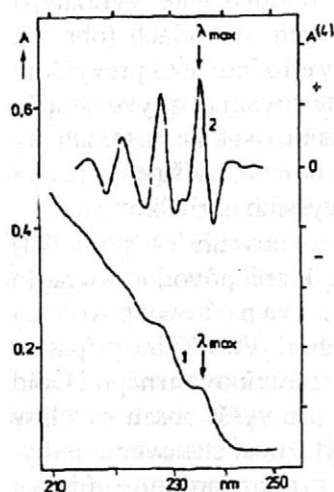
## I. Vplyv poriadku derivácie na správnosť stanovenia sacharínu v nealkonápojoch — The influence of derivative order on the correctness of saccharin determination in nonalcoholic beverages

Druh nápoja <sup>1</sup>	Prídavok sacharínu <sup>2</sup> [mg. kg <sup>-1</sup> ]	Obsah sacharínu <sup>3</sup> [mg. kg <sup>-1</sup> ]			
		derivácie 2. poriadku <sup>4</sup>		derivácie 4. poriadku <sup>5</sup>	
		obsah <sup>6</sup>	výťažnosť <sup>7</sup> [%]	obsah	výťažnosť [%]
Vinea	10	2,5 (0,53)	25	9,93 (0,83)	99,3
River Indian Tonic	10	21,5 (1,47)	215	10,1 (0,25)	101,0
Dia Sap	10	6,6 (0,54)	66	10,7 (2,3)	107,0
Lena Maracuja	10	11,6 (0,12)	116	11,6 (0,54)	116
Olympus Oranž	45	32,4 (0,41)	72	44,9 (0,53)	99,8
Mirinda Tonic	45	33,5 (0,12)	74,4	44,8 (0,24)	99,6
Gold Mango	45	62,7 (0,35)	139,3	46,7 (3,30)	103,8
Gold Kiwi	45	59,4 (0,94)	132	43,1 (2,48)	95,8

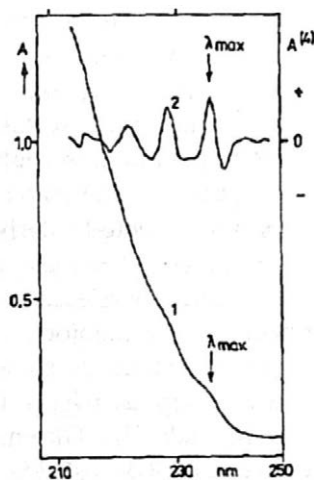
Holds for Tables I - IV: ( ) =  $s_R$  smerodajná odchýlka určená z rozpätia — standard deviation determined from the range

$n = 3$  (počet stanovení — number of determinations)

<sup>1</sup>kind of drink; <sup>2</sup>saccharin additive; <sup>3</sup>saccharin content; <sup>4</sup>2nd order derivative; <sup>5</sup>4th order derivative; <sup>6</sup>content; <sup>7</sup>yield



1 = absorpčné spektrum  
— absorption spectrum  
2 = 4. derivácia absorpčného spektra — 4th derivative of absorption spectrum



1. Derivačno-spektrofotometrické stanovenie sacharínu v štandardnom roztoku 4 mg na 1 l — Derivative spectrophotometric determination of saccharin in standard solution 4 mg per l

2. Derivačno-spektrofotometrické stanovenie sacharínu v Dia-šerbetienke 14 g na 0.61 l vody, riedenie 20krát — Derivative spectrophotometric determination of saccharin in Dia-šerbet powder 14 g per 0.61 l of water, twenty-fold dilution

II. Správnosť derivačno-spektrofotometrického stanovenia sacharínu v niektorých požívatínach s prídavkom 45 mg na 1 kg — The correctness of derivative spectrophotometric determination of saccharin in some foodstuffs with an additive of 45 mg per kg

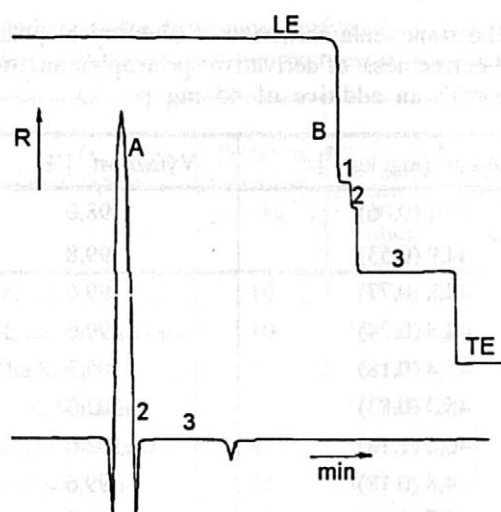
Výrobok <sup>1</sup>	Obsah <sup>2</sup> [mg. kg <sup>-1</sup> ]	Výťažnosť <sup>3</sup> [%]
River Indian Tonic	44,1 (0,06)	98,0
Olympus oranž	44,9 (0,53)	99,8
Pepsi Cola	44,8 (0,77)	99,6
Mirinda Tonic	44,8 (0,24)	99,6
Dia Sap - práškový nápoj <sup>4</sup>	47,4 (0,18)	105,3
Lena Maracuja	45,9 (0,83)	102,0
Lena Kiwi	46,2 (1,18)	102,6
Tina Citron	44,8 (0,18)	99,6
Gold Mango	46,7 (3,30)	103,7
Gold Kiwi	43,1 (2,48)	95,8
Perla	69,9 (0)	155,3
Gold Cola (bez kofeínu <sup>5</sup> )	49,6 (5,37)	110,2
Sirup Záhradná zmes <sup>6</sup>	42,2 (1,77)	93,8
Uhorkový nálev <sup>7</sup>	43,9 (3,70)	97,5
Jogurt biely <sup>8</sup>	45,7 (1,06)	101,7

<sup>1</sup>product; <sup>2</sup>content; <sup>3</sup>yield; <sup>4</sup>dietetic sap as drink powder; <sup>5</sup>caffeine-free; <sup>6</sup>syrup "garden fruit mixture"; <sup>7</sup>gherkin pickles; <sup>8</sup>natural yoghurt

III. Vplyv vybraných aditívnych látok na správnosť stanovenia sacharínu v štandardnom roztoku 45 mg na 1 l metódou derivačnej spektrofotometrie — The effect of some additives on the correctness of saccharin determination in standard solution 45 mg per l by the method of derivative spectrophotometry

Aditívna látka <sup>1</sup>	Prídavok <sup>2</sup> [mg. l <sup>-1</sup> ]	Obsah sacharínu <sup>3</sup>	
		[mg. l <sup>-1</sup> ]	[%]
Acesulfam K	50	46,1 (0,59)	102,4
Acesulfam K	200	46,6 (1,06)	103,5
Aspartam	250	45,8 (0,35)	101,8
Kyselina askorbová <sup>4</sup>	500	46,9 (1,06)	104,2
Kofeín <sup>5</sup>	100	44,4 (0,24)	98,7
Kyselina benzoová <sup>6</sup>	60	46,4 (1,29)	103,1
Kyselina sorbová <sup>7</sup>	200	51,7 (4,95)	114,9

<sup>1</sup>additives; <sup>2</sup>additive; <sup>3</sup>saccharin content; <sup>4</sup>ascorbic acid; <sup>5</sup>caffeine; <sup>6</sup>benzoic acid; <sup>7</sup>sorbic acid



A = záznam z UV detektora analytickej kapiláry: 1 a 2 - zmesná zóna pre acesulfam K a sacharín; 3 - cyklamát — record of a UV detector of analytic capillary: 1 and 2 - mixed zone for acetsulfam and saccharine; 3 - cyclamate

B = záznam z konduktometrického detektora - record of conductometric detector: 1 - acesulfam K; 2 - sacharín — saccharin; 3 - cyklamát — cyclamate

3. Záznam izotachoforetického stanovenia sacharínu v stolovom sladidle Sionon (SNR) 0,133 g na 100 ml vody, riedenie 10krát — Record of isotachophoretic determination of saccharin in the table sweetener Sionon (FGR) 0.133 g per 100 ml of water, ten-fold dilution

IV. Stanovenie sacharínu v niektorých dia výrobkoch a stolových sladidlách, porovnanie metódy derivačnej spektrofotometrie a kapilárnej izotachoforézy — Saccharin determination in some dietetic products and table sweeteners, confrontation of the results by the method of derivative spectrophotometry and capillary isotachopheresis

Výrobok <sup>1</sup>	Obsah sacharínu <sup>2</sup> [mg.l <sup>-1</sup> ]		Proklamovaný obsah <sup>3</sup>
	derivačná spektrofotometria <sup>4</sup>	ITP	
Vita citrón	36,7 (0,76)	35,1 (2,48)	
Dia šumienka <sup>5</sup>	79,9 (1,06)	74,6 (0)	
Vita citron	22,7 (0,77)	21,3 (1,14)	
River Indian Tonic	44,1 (0,66)	41,5 (0,62)	45,0
Vita Šport	125,8 (0,77)	123,9 (1,89)	
Dia citrónový sirup <sup>6</sup>	84,7 (3,59)	84,5 (2,21)	
Diaspon 110T	14,2 (0,06)		14,0
Sacharin 110T	13,4 (0,12)	13,1 (0,02)	
Spolarin S	10,1 (0,03)	10,0 (0,59)	
Sorbit SRN	0,14 (0) %	0,13 (0) %	0,11 %
Sorbit ČSFR	0,18 %	0,17 %	0,15 %
Sionon SRN	50,7 (0,12)	43,2 (0,94)	46,0
Diet citrón	44,2 (0,41)		

<sup>1</sup>product; <sup>2</sup>saccharin content; <sup>3</sup>declared content; <sup>4</sup>derivative spectrophotometry; <sup>5</sup>Dia-sherbet powder; <sup>6</sup>dia lemon syrup

kyseliny sorbovej stanovenie nerušia ostatné uvedené typy aditívnych látok, ktoré môžu byť vo vzorke prítomné v aktuálnej koncentrácii.

V tab. IV porovnáваме výsledky derivačno-spektrofotometrického stanovenia sacharínu v niektorých komerčných požívatinách a stolových sladidlách s hodnotami zistenými metódou kapilárnej izotachoforézy. Výsledky analýz oboch metód sú vo veľmi dobrej zhode, pričom rozdiely priemerných výsledkov metód sú štatisticky málo významné. Uvedená modifikácia kapilárnej izotachoforézy na stanovenie sacharínu v nízkoenergetických požívatinách pomocou nových a komerčne dostupných elektrolytových systémov umožnila oproti doteraz používaným skrátiť čas analýzy z jednej hodiny na polovicu. Stanovenie pomocou derivačnej spektrofotometrie je však z tohto hľadiska efektnejšie, pretože trvá len niekoľko minút.

Izotachoforetický záznam stanovenia sacharínu je uvedený na obr. 3. Na kvantitatívne účely sa využil záznam z konduktometrického i UV detektora. Odskúšaný systém elektrolytov umožňuje tiež súčasné stanovenie iných sladidiel ako acesulfamu K a cyklamátov, napr. v sladidle Sionon (Drugofa, SNR). Vysoký obsah kyseliny citrónovej, bežne využívaný v nealkoholických nápojoch, nepôsobí rušivo, pretože je táto kyselina vhodne použitá ako zakončujúci elektrolyt. Pri súčasnom stanovení sacharínu a acesulfamu K je výhodnejšie využiť na stanovenie záznam z konduktometrického detektora. Medza stanovenia pri metóde ITP pre štandardný roztok sacharínu bola zistená pri 0,5 mg/l, v nápojoch pri 0,7 mg/l.

Prezentovaná metóda derivačnej spektrofotometrie, využívajúca pomerne vysoký 4. poriadok matematickej transformácie, umožňuje okrem uvedeného kvantitatívneho stanovenia sacharínu v niektorých dia požívatinách tiež jeho bezpečnú identifikáciu. Napriek tomu, že pre vyššiu hodnotu medze stanovenia neumožňuje kvantitatívne stanovenia pri nižších a stopových koncentráciách, pre koncentrácie sacharínu na úrovni povolených množstiev predstavuje táto metóda veľmi jednoduchú analytickú rýchlometódu, ktorá v oblasti stále aktuálneho monitoringu cudzorodých látok v požívatinách môže byť efektívne využívaná. Podobne týmto účelom môže slúžiť aj uvedená verzia kapilárnej izotachoforézy, pretože ide o časovo a ekonomicky výhodnejšiu modifikáciu.

#### Literatúra

- BASILE, G.: Chem Abstr., 66, 1967, cit. 36579x.  
 GEPPERT, H.: Bestimmung von Saccharin in alkoholfreien Erfrischungsgetränken mit dem Specord M40. Lebensm.-Ind., 34, 1987 : 82.  
 HUSSEIN, M. a kol.: Quantitative determination of Saccharin in food products by ultraviolet spectrophotometry. JAFIC, 24, 1976 : 36-40.  
 MORYASU, T. a kol.: Simultaneous determination of acesulfam K, saccharin and aspartame in soft drinks. J. Food HSI, 30, 1989 : 163-169.  
 LAWRENCE, J. F. - CHARBONEAU, C. F.: Determination of seven artificial sweeteners in diet food preparations by RPLC. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 70, 1987 : 578-581.

ONDROUŠEK, S. a kol.: Využití kapalinové chromatografie ke stanovení sacharinu v konzervárenských výrobcích. *Prům. Potr.*, 41 1990 : 248-250.

VEERABHADRARTAO, M. a kol.: Reverse phase liquid chromatographic determination of some food additives. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 71, 1988 : 934-935.

ZACHE, H. - GRUNDIG, H.: Bestimmung von Acesulfam-K, Aspartam, Cyclamat und Sacharin in fruchtsafthaltigen Erfrischungsgetränken. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.*, 184, 1987 : 503-509.

AOAC - Official methods of analysis. 14th Ed., Arlington, AOAC Inc., 1984 : 404-406.

Závazné opatrenia MZ SR zo dňa 30. 11. 1977 č. 35. Hygienické požiadavky na cudzorodé látky v požívatinách, čiastka 19-20, ročník 27.

Došlo dňa 13. 3. 1992

*M. Suhaj (Research Institute of Food Industry, Bratislava, Slovak Republic)*

### **Saccharin determination in foodstuffs by capillary isotachophoresis and derivative spectrophotometry**

The paper deals with two modifications of the methods of analysis, derivative spectrophotometry and capillary isotachophoresis, to determine saccharin content in dietetic nonalcoholic beverages, drink powders, syrups and table sweeteners.

Mathematical derivatives of 4th order absorption spectra by means of a software cartridge were used on a Specord M 40 apparatus for derivative spectrophotometry. The values of derived record at 236 nm were used for analysis (Figs. 1 and 2). For isotachophoretic determination 0.01mM of HCl,  $\beta$ -alanine, MHEC, pH 3 was used as a base electrolyte, and 5mM of citric acid were used as an end electrolyte, while conductometric and UV detector at 254 nm was employed. The correctness of the method of derivative spectrophotometric determination of saccharin was good, it ranged from 93.8 to 105.3 % in dependence on saccharin concentration at the permitted concentration in samples (Table II). If the concentrations were lower than 10 mg/l, the yield error began to increase. The determination limit was found to be 5 mg/l and the detection limit was at 0.5 mg/l. The other types of additives, except sorbic acid, did not interfere with determinations (Table III). The values of derivative spectrophotometric determination of saccharin in some commercial samples are confronted with the values determined by isotachophoresis (Table IV). The results of both methods of analysis are in very good agreement, while the differences are statistically little significant. Fig. 3 shows a record of isotachophoretic determination of saccharin in the table sweetener Sionon (FRG). The described modification of capillary isotachophoresis is attractive as to its time requirement, and it enables to determine simultaneously also other synthetic sweeteners such as acesulfam K and cyclamates. The ITP determination limit for standard solution was 0.5 mg/l, and 0.7 mg/l in drinks. The described method of derivative spectrophotometry also enables safe identification of saccharin in low-energy products. Both methods can be used particularly as high-speed methods of analysis.

saccharin; capillary isotachophoresis; derivative spectrophotometry; food analyses

## VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ KADMIA, OLOVA, MĚDI A ZINKU V POTRAVINÁCH

*Richard KOPLÍK, Šárka NĚMCOVÁ*

*Vysoká škola chemickotechnologická, Ústav chemie a analýzy potravin,  
Technická 5, 166 28 Praha 6*

Ke stanovení těžkých kovů v potravinách byla použita diferenční pulzní anodická rozpouštěcí voltametrie (Pb, Cd, Cu) a diferenční pulzní polarografie (Zn). Vzorky byly mineralizovány zpopelněním s pomalým nárůstem teploty (50 °C/h), přičemž maximální teplota byla 450 °C. K měření byly použity výluhy popela ve zředěné kyselině dusičné nebo chlorovodíkové bez další úpravy (Cd, Pb, Cu) nebo s úpravou pH (Zn). Vhodnost zpopelnění byla ověřena použitím mineralizace na mokré cestě a bylo dosaženo dobré shody výsledků. Meze detekce pro jednotlivé prvky při zpracování navážky 5 g vzorku činí 0,001 mg Cd, 0,20 mg Pb, 0,50 mg Cu a 0,15 mg Zn na 1 kg.

kadmium; olovo; měď; zinek; voltametrie; potraviny

Kontrola hygienické a nutriční jakosti potravin z hlediska obsahu stopových prvků i výzkum v této oblasti se neobejdou bez citlivých a spolehlivých analytických metod. V současné době se v analytických laboratořích používá pro stanovení stopových prvků v potravinách nejčastěji spektrometrických metod, zejména atomové absorpční spektrometrie (AAS) a atomové emisní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou (ICP - AES). Pro stanovení některých prvků (např. Cd, Pb, Cu, Zn, Ni, Co, As, Se, Sn) mohou být užitečné moderní polarografické a voltametrické metody, především diferenční pulzní polarografie (DPP), rozpouštěcí voltametrie a adsorptivní voltametrie. Tyto metody jsou vysoce citlivé a našly uplatnění při analyzování složek životního prostředí (N ü r n - b e r g, 1982; H á t l e, 1986) i biologických materiálů (A d e l o j u e t al., 1985) a potravin (A O A C, 1984).

Pro stanovení kadmia a olova je obvyklou metodou diferenční pulzní anodická rozpouštěcí voltametrie (DPASV) buď na rtuťové filmové elektrodě MFE (A l i a k b a r , P o p l, 1984), nebo na visící rtuťové kapkové elektrodě HMDE. Tato metoda byla použita ke stanovení kadmia a olova v řadě potravinářských materiálů (J ö n s s o n, 1976; J o n e s e t al., 1977; S u l e k e t al., 1978; S a t z g e r e t al., 1982; G a j a n e t al., 1982; N a r r e s e t al., 1984; P r u g a - r o v á , K o v á č, 1985; M a d e r e t al., 1987). K rozkladu vzorků bylo nejčastěji používáno zpopelnění, někdy s použitím pomocných činidel (např. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

nebo  $\text{KHSO}_4$ ) a jen v několika případech byla použita mineralizace na mokré cestě (N a r r e s et al., 1984; A d e l o j u et al., 1985). Jako základní elektrolyty pro stanovení kadmia a olova jsou vhodné zředěné roztoky minerálních kyselin (např. roztoky  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HCl}$  nebo  $\text{HClO}_4$  v koncentraci 0,01 až 0,5 mol/l), někdy s přídatkem pufrující složky (např. octanového tlumiče).

Ke stanovení zinku a mědi obvykle postačuje měření diferenční pulzní polarografií v kyselém nebo amoniakálním elektrolytu (A d e l o j u et al., 1985; N a n g n i o t, 1985).

Tato práce je příspěvkem k osvojení voltametrických metod v potravinářské analýze pro účely rutinního stanovení toxických i esenciálních stopových prvků.

## MATERIÁL a METODY

**Chemikálie a pomůcky:** Všechny použité chemikálie byly výrobky Lachema, s.p., Brno stupně čistoty p.a. K přípravě roztoků a jejich ředění byla použita redestilovaná voda. Používané nádoby (kádinky, odměrné baňky) bylo po důkladném vymytí destilovanou vodou louženo tři týdny ve zředěné  $\text{HNO}_3$  (1 : 10), pak bylo dokonale vypláchnuto redestilovanou vodou a usušeno.

**Přístroje a parametry měření:** K voltametrickému měření byl použit polarografický analyzátor CPA-1 doplněný skleněným míchadlem ve spojení s liniovým zapisovačem TZ 4620 (Laboratorní přístroje Praha).

Parametry měření:

- tříelektrodový měřicí systém (HMDE nebo SMDE, nasycená argentchloridová elektroda, platinová pomocná elektroda),
- povrch kapky  $0,7 \text{ mm}^2$ ,
- diferenční pulzní metoda měření,
- amplituda pulzu 50 mV,
- délka pulzu 100 ms,
- délka proudového vzorku 20 ms,
- počáteční potenciál nebo potenciál elektrolýzy  $-0,7 \text{ V}$  (Cd, Pb),  $-0,2 \text{ V}$  (Cu),  $-0,6 \text{ V}$  (Zn),
- doba elektrolýzy 60 až 600 s za míchání a následně 20 s bez míchání (Cd, Pb), 30 s bez míchání (Cu),
- směr nárůstu potenciálu + (Cd, Pb, Cu), - (Zn); rychlost nárůstu potenciálu 20 mV/s (Cd, Pb, Cu) nebo 5 mV/s (Zn),
- interval mezi pulzy 0,2 s (Cd, Pb, Cu),
- doba kapky (pouze při DPP) 2 s.

Ke stanovení kadmia, olova, mědi a zinku atomovou absorpční spektrometrií byl použit spektrometr Varian AA 775 ABQ s deuteriovou kompenzací pozadí. Připravené výluhy popela byly přímo rozmlžovány do plamene acetylen - vzduch. Absorbance byly měřeny na čarách 228,8 pro Cd; 217,0 pro Pb; 324,7 pro Cu a 213,9 nm pro Zn.

*Mineralizace vzorků*

Zpopelnění: 5 až 20 g zhomogenizovaného čerstvého vzorku bylo odváženo do 50ml nebo 100ml kádinky ze skla Simax. Vzorek byl vysušen při 105 °C do konstantní hmotnosti. Následovalo zpopelnění v elektrické peci postupným zvyšováním teploty ze 150 na 450 °C (vždy po 1 h byla nastavena teplota o 50 °C vyšší). Po 16 h při 450 °C byly vzorky vyjmuty z pece, kádinky byly přikryty hodinovými skly a po vychladnutí byl přidán 1 ml 65% HNO<sub>3</sub>. Obsah kádek byl na topné desce zahříván k varu a po 10 min byla sejmuta hodinová skla a vzorky byly dále zahřívány až do úplného odpaření kyseliny dusičné. Pak byly kádinky opět vloženy do pece a žíhány 3 až 4 h při 450 °C. Získané popely byly v kádinkách vylouženy za tepla postupně dvěma dávkami (2,5 ml) HNO<sub>3</sub> c = 1 mol/l nebo HCl c = 3 mol/l. Spojené výluhy popela byly kvantitativně převedeny do 50ml odměrných baněk a doplněny redestilovanou vodou po značku. Analogickým způsobem byly připraveny roztoky slepých pokusů.

Mineralizace na mokré cestě: Mineralizace směsí HNO<sub>3</sub> - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - HClO<sub>4</sub> byla použita pouze jako kontrolní srovnávací metoda. Provedení rozkladu vycházelo z mírné modifikace osvědčených standardních postupů (G o r s u c h, 1959; ČSN 56 0065) - tj. zážeh vzorků v Kjeldahlově baňce na vodní lázni při 60 °C 8 h, pak var pod zpětným chladičem. Na navážku 5 g vzorku bylo použito 30 ml 65% HNO<sub>3</sub> (ve čtyřech přídávcích), 1 ml 98% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a na konci rozkladu 1 ml 70% HClO<sub>4</sub>.

*Další úprava vzorků a voltametrické stanovení kovů*

Ke stanovení bylo do polarografické nádoby odpipetováno 5 ml roztoku vzorku. Do roztoku byl 3 až 5 min zaváděn proud dusíku a pak bylo zahájeno měření, během kterého byl dusík zaváděn nad hladinu roztoku v nádobce.

Kadmium, olovo a měď byly stanoveny diferenční pulzní anodickou rozpouštěcí voltmetrií (DPASV) ve výluhu popela bez jakékoli další úpravy. Pro stanovení kadmia v mineralizátech obsahujících kyselinu sírovou byla nutná částečná neutralizace roztokem hydroxidu sodného asi na pH 1.

Zinek byl stanoven diferenční pulzní polarografií (DPP) ve výluhu popela po mírném otupení kyselosti přídávkem vínanu nebo octanu (na 5 ml roztoku vzorku v HNO<sub>3</sub> c = 1 mol/l bylo přidáno 0,25 ml roztoku vínanu sodného c = 1 mol/l nebo 0,5 ml roztoku octanu sodného c = 1 mol/l). Ke kvantifikaci všech voltametrických měření byla použita metoda standardního přídávku.

**VÝSLEDKY a DISKUSE**

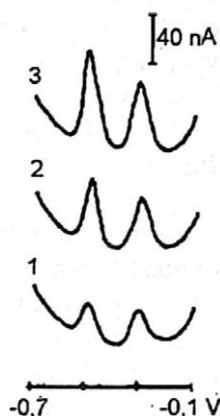
**Stanovení kadmia, olova a mědi:** Kadmium a olovo jsou typické kontaminující prvky. Ve většině druhů potravin nepřesahuje obsah kadmia 0,1 mg/kg a obsah olova 0,5 mg/kg. K jejich stanovení je proto třeba použít vysoce citlivou metodu

anodické rozpouštěcí voltametrie. Není-li poměr koncentrací olova a kadmia ve vzorku větší než osm, mohou být oba prvky stanoveny metodou DPASV společně při jediném měření. Příklad takového stanovení je uveden na obr. 1. V prostředí  $\text{HNO}_3$   $c = 0,1 \text{ mol/l}$  mají kadmium a olovo potenciály rozpouštěcích píků  $-0,53 \text{ V}$  a  $-0,31 \text{ V}$ .

1. Stanovení kadmia a olova ve vzorku sójových bobů —  
Determination of cadmium and lead in soybean seeds

elektrolyt - electrolyte  $0.1 \text{ mol. l}^{-1} \text{ HNO}_3$   
DPASV,  $E_e = -0.7 \text{ V}$ ,  $t_e = 60 + 20 \text{ s}$ ,  $20 \text{ mV s}^{-1}$

- (1) : vzorek — sample  
(2): (1) +  $4.95 \text{ ng (Cd, Pb). ml}^{-1}$   
(3): (1) +  $9.80 \text{ ng (Cd, Pb). ml}^{-1}$



V některých biologických materiálech bývá však obsah kadmia mnohonásobně nižší než obsah olova a je tedy často nutné měřit koncentrace kadmia nižší než  $1 \text{ ng/ml}$ . Pro zvýšení rozpouštěcích píků kadmia je pak nutné prodloužit dobu elektrolýzy na několik minut nebo měřit při vyšší proudové citlivosti v elektrolytu, jehož acidita byla mírně otupena např. přidávkem octanového pufru (J o n e s et al., 1977; S a t z g e r et al., 1982; G a j a n et al., 1982; M a d e r et al., 1987). Tento druhý způsob je však spojen s rizikem kontaminace vzorku nečistotami z použité chemikálie, a tak může vést ke snížení spolehlivosti analýzy.

2. Stanovení kadmia, olova a mědi ve vzorku vojtěšky — Determination of cadmium, lead and copper in alfalfa

elektrolyt — electrolyte  $0.3 \text{ mol. l}^{-1} \text{ HCl}$

a) stanovení kadmia — Cd determination

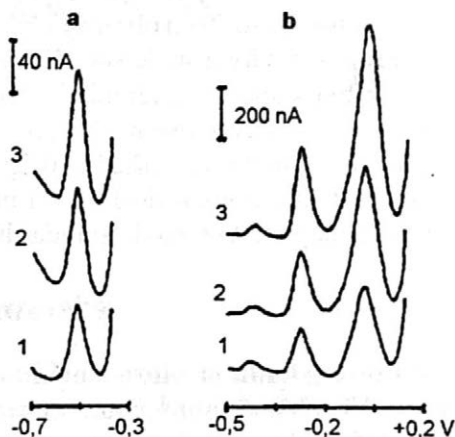
DPASV,  $E_e = -0.7 \text{ V}$ ,  $t_e = 120 + 20 \text{ s}$ ,  $20 \text{ mV. s}^{-1}$

- (1): vzorek — sample  
(2): (1) +  $4.95 \text{ ng Cd. ml}^{-1}$   
(3): (1) +  $9.80 \text{ ng Cd. ml}^{-1}$

b) stanovení olova a mědi — Pb and Cu determination

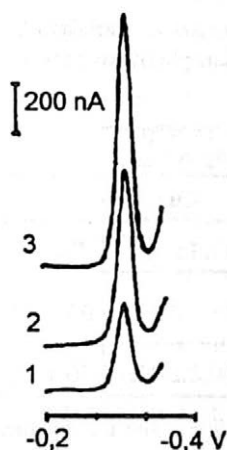
DPASV,  $E_e = -0.6 \text{ V}$ ,  $t_e = 30 + 20 \text{ s}$ ,  $20 \text{ mV. s}^{-1}$

- (1): vzorek po stanovení kadmia — sample solution after Cd determination  
(2): (1) +  $36 \text{ ng Pb. ml}^{-1} + 182 \text{ ng Cu. ml}^{-1}$   
(3): (1) +  $68 \text{ ng Pb. ml}^{-1} + 339 \text{ ng Cu. ml}^{-1}$



Stanovení vyšších koncentrací olova může být v některých případech spojeno se stanovením mědi metodou DPASV po elektrolytickém nahromadění těchto prvků při -0,6 V. Kadmium se stanoví zvlášť při vyšší citlivosti (obr. 2).

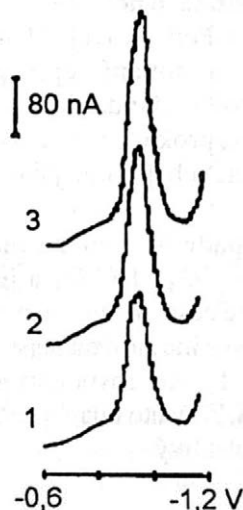
Pro stanovení mědi v relativně vyšších koncentracích (cca 1  $\mu\text{g/ml}$ ) se osvědčilo měření metodou DPASV po elektrolyze trvající 30 s v nemíchaném elektrolytu při potenciálu -0,2 V. Příklad takového stanovení je znázorněn na obr. 3.



3. Stanovení mědi ve vzorku sójových bobů — Determination of copper in soybean seeds

elektrolyt — electrolyte 0.1 mol.  $l^{-1}$   $\text{HNO}_3$   
 DPASV,  $E_c = -0.2$  V,  $t_c = 30$  s (bez míchání — without stirring)  
 (1): vzorek — sample  
 (2): (1) + 0.99 g Cu.  $ml^{-1}$   
 (3): (1) + 1.96 g Cu.  $ml^{-1}$

**Stanovení zinku:** Poměrně vysoké koncentrace zinku ve většině potravin umožňují ve vhodném elektrolytu přímé stanovení diferenční pulzní polarografií. Stanovení však vyžaduje elektrolyt o hodnotě  $\text{pH} \geq 2$ . Přiměřeného zvýšení  $\text{pH}$  lze dosáhnout např. přidávkem octanu sodného (Jones et al, 1977) nebo vlnanu sodného k výluhu popela. V kyselém vlnanovém nebo octanovém elektrolytu činí hodnota potenciálu píku zinku -0,91 V. Příklad stanovení zinku je uveden na obr. 4.



4. Stanovení zinku ve vzorku sójových bobů — Determination of zinc in soybean seeds

elektrolyt — electrolyte 0.1 mol.  $l^{-1}$   $\text{HNO}_3$ , 0.05 mol.  $l^{-1}$   $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$   
 DPP,  $E_i = 0.6$  V, 5 mV.  $s^{-1}$   
 (1): vzorek — sample  
 (2): (1) + 0.94 g Zn.  $ml^{-1}$ ;  
 (3): (1) + 1.85 g Zn.  $ml^{-1}$

Velmi dobrá opakovatelnost měření umožňuje v tomto případě i kvantitativní vyhodnocení z kalibrační křivky, což přináší značnou časovou úsporu při analýzách větších sérií vzorků.

**Zhodnocení analytického postupu:** K ověření spolehlivosti analytického postupu nebyl k dispozici žádný standardní referenční materiál. Metoda byla vyzkoušena na vzorku sójových bobů. Výsledek stanovení shrnuje tab. I.

I. Stanovení kadmia, olova, mědi a zinku ve vzorku sójových bobů různými analytickými metodami — Determination of cadmium, lead, copper and zinc in the sample of soybean seeds using various analytical methods

Metoda <sup>1</sup>	Obsah prvku <sup>2</sup> [mg. kg <sup>-1</sup> ]			
	Cd	Pb	Cu	Zn
Zpopelnění a voltametrické stanovení <sup>3</sup>	0,055 ± 0,010	<0,20	11,4 ± 1,5	29,9 ± 0,9
Mokrý mineralizace a voltametrické stanovení <sup>4</sup>	0,060 ± 0,023	-	11,1 ± 1,2	32,4 ± 1,5
Zpopelnění a stanovení AAS <sup>5</sup>	<0,10	<0,50	10,2 ± 0,2	30,8 ± 0,3

a = průměr a směrodatná odchylka z pěti stanovení — mean and standard deviation of five measurements

<sup>1</sup>method; <sup>2</sup>element content; <sup>3</sup>dry ashing and voltammetric determination; <sup>4</sup>wet digestion and voltammetric determination; <sup>5</sup>dry ashing and AAS determination

Správnost výsledků analýzy stopových prvků je závislá především na volbě vhodného způsobu mineralizace. V této práci byla jako základní metoda pro rozklad vzorků zvolena mineralizace na suché cestě s postupným nárůstem teploty (s maximální teplotou 450 °C) a následnou aplikací 1 ml 65% HNO<sub>3</sub> pro dokončení a urychlení rozkladu. Byly však publikovány i údaje o ztrátách některých prvků během zpopelnění (G o r s u c h, 1959; J i r á n e k, 1983). Podle novějších údajů (B o e r, M a e s s e n, 1983) však právě postupné zvyšování teploty při zpopelnění tyto ztráty minimalizuje. Analýzou biologického standardního referenčního materiálu NSB 1577 Bovine Liver citovaní autoři prokázali, že uvedený způsob rozkladu vede ke správným výsledkům i u těžkých prvků, jako jsou kadmium, zinek, měď a olovo.

Pro ověření vhodnosti zpopelnění byla v našem případě provedena mokrá mineralizace vzorku sójových bobů směsí HNO<sub>3</sub> - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - HClO<sub>4</sub> a jejich voltametrické stanovení. Olovo po mineralizaci na mokré cestě nebylo stanoveno vzhledem k tomu, že metody mokrého rozkladu používající kyselinu sírovou nejsou pro jeho stanovení příliš vhodné (G o r s u c h, 1959). V tab. I jsou rovněž uvedeny výsledky stanovení kovů ve výluhu popela plamenovou AAS. Z těchto údajů je zřejmá dobrá shoda výsledků, takže použitý analytický postup je spolehlivý.

U jednotlivých prvků byly určeny meze detekce pro celý analytický postup na základě variability hladin těchto prvků v roztocích slepých pokusů. Mez detekce daného prvku je třeba určit pro každou sadu zpracovávaných vzorků. Mez detekce při navážce vzorku 5 g se pohybují okolo 0,20 mg Pb, 0,50 mg Cu a 0,15 mg Zn na 1 kg. Mez detekce kadmia je určena pouze nejmenší měřitelnou koncentrací; za zvolených podmínek lze dosáhnout meze detekce až 0,001 mg Cd na 1 kg. Poměrně vysoké hodnoty meze detekce, zvláště u olova a mědi, by bylo možné výrazně snížit pouze ve stopové laboratoři s kontrolovaným prostředím. Pro stanovení nižších obsahů je při práci v běžné chemické laboratoři třeba vycházet z ještě větší navážky vzorku.

Uvedený způsob mineralizace se, co se týká úplnosti rozkladu, osvědčil. Pouze u vzorků jater bylo nutné odpaření popela s kyselinou dusičnou a následné žhání v peci provést dvakrát až třikrát. Tím došlo k dokonalému odstranění zbytků organické matrice vzorku, takže následné voltametrické měření nebylo ovlivněno přítomností organických látek.

Popsaný analytický postup byl použit pro stanovení kadmia, olova, mědi a zinku v řadě různých druhů poživatin a zemědělských produktů. Zjištěné koncentrace těchto prvků v některých potravinách jsou uvedeny v tab. II.

U některých komodit bylo analyzováno jen několik vzorků, takže v těchto případech je možné se setkat i s vyššími nebo naopak s nižšími koncentracemi

II. Obsah kadmia, olova, mědi a zinku ve vybraných potravinách — Content of cadmium, lead, copper and zinc in selected foods

Potravina <sup>1</sup>	n	Obsah prvku <sup>2</sup> [mg. kg <sup>-1</sup> ]			
		Cd	Pb	Cu	Zn
Brambory <sup>3</sup>	10	0,014-0,050	< 0,05-0,11	0,77-2,64	2,21-6,65
Špenát <sup>4</sup>	15	0,032-0,52	< 0,05-0,27	0,90-1,72	4,68-23,8
Květák <sup>5</sup>	4	0,013-0,021	< 0,10	0,38-0,59	2,03-2,67
Mrkev <sup>6</sup>	4	0,042-0,058	< 0,10	1,26-1,39	2,83-3,23
Hrášek <sup>7</sup>	4	0,008-0,018	< 0,10	2,15-2,21	10,7-11,3
Sýr Eidam <sup>8</sup>	5	0,001-0,003	< 0,05-0,07	0,49-0,68	32,4-37,2
Vejte <sup>9</sup>	3	0,001	< 0,05-0,14	1,42-2,25	10,8-12,8
Čaj <sup>10</sup>	25	0,018-0,12	< 0,20-1,29	10,6-33,4	22,6-38,2
Hovězí játra <sup>11</sup>	4	0,012-0,16	< 0,05-0,19	65,7-79,2	33,9-48,5
Pšenice <sup>12</sup>	8	0,016-0,059	< 0,07-0,13	2,47-11,4	7,86-23,8

<sup>1</sup>food; <sup>2</sup>element content; <sup>3</sup>potatoes; <sup>4</sup>spinach; <sup>5</sup>cauliflower; <sup>6</sup>carrot; <sup>7</sup>green peas; <sup>8</sup>Edam type cheese; <sup>9</sup>eggs; <sup>10</sup>tea; <sup>11</sup>bovine liver; <sup>12</sup>wheat

kadmia, olova, mědi nebo zinku, než které jsou v tab. I a II uvedeny. Koncentrace některých prvků je u řady vzorků velmi variabilní; souvisí to s jejich různým původem (vliv lokality, odrůdy, způsobu pěstování, hnojení, u živočišných materiálů vliv krmení zvířat, stáří zvířat atd.). S ohledem na lokalitu měly nejrozrodnější původ vzorky čajů, které pocházely z Gruzie, Číny, Vietnamu, Indie a Ceylonu. Tomu také odpovídá široký rozsah koncentrací kadmia, olova, ale i jiných prvků, které zde nejsou zmíněny (železo, mangan, nikl). U jednotlivých vzorků špenátu byly zjištěny rovněž velké koncentrační rozdíly, zejména pokud jde o kadmium. Analyzované vzorky byly vypěstovány v několika lokalitách ve středních a severních Čechách. Přestože maximální zjištěná hodnota obsahu kadmia je 0,52 mg/kg, průměrný obsah činil pouze 0,11 mg/kg a z 15 vzorků pouze 3 přesáhly 0,10 mg/kg. Tyto tři vzorky s výrazně vyšším obsahem kadmia pocházejí ze stejné lokality v severních Čechách. Vzorek s nejvyšším obsahem kadmia měl také nejvyšší obsah zinku (23,8 mg/kg), přitom průměrný obsah zinku v analyzovaných vzorcích špenátu činil pouze 9,30 mg/kg.

Z uvedeného přehledu je zřejmé, že obsah toxických, ale i esenciálních stopových prvků v potravinách je ovlivněn řadou faktorů a bude vyžadovat i nadále stálou pozornost.

#### Literatura

- ADELOJU, S. B. - BOND, A. M. - BRIGGS, M. H.: Multielement determination in biological materials by differential pulse voltammetry. *Anal. Chem.*, 57, 1985 : 1386-1148.
- ALIAKBAR, A. - POPL, M.: The determination of trace amounts of heavy metals in foodstuffs by anodic stripping voltammetry: optimization of chemical factors. *Coll. Czechoslov. chem. Commun.*, 49, 1981 : 1140-1148.
- ALIAKBAR, A. - POPL, M.: The determination of trace amounts of heavy metals in foodstuffs by anodic stripping voltammetry: Optimization of apparatus parameters. *Coll. Czechoslov. chem. Commun.*, 49, 1984 : 45-50.
- BOER, J. L. M. de - MAESSEN, F. J. M. J.: A comparative examination of sample treatment procedures for icap-aes analysis of biological tissue. *Spectrochim. Acta*, 38 B, 1983 : 739-746.
- GAJAN, R. J. - CAPAR, S. G. - SUBJOC, C. A. - SANDERS, M.: Determination of lead and cadmium in foods by anodic stripping voltammetry: Development of method. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 65, 1982 : 970-977.
- GORSUCH, T. T.: Radiochemical investigation on the recovery for analysis of trace elements in organic and biological materials. *Analyst*, 84, 1959 : 135-173.
- HÁTLE, M.: Elektrochemická rozpouštěcí analýza těžkých kovů v ekologicky významných materiálech. *Chem. Listy*, 80, 1986 : 808-820.
- JIRÁNEK, V.: Sledování ztrát stopových prvků během spalování biologických materiálů. In: *Sbor. Mikroelementy 83. Rožnov pod Radhoštěm*, 1983 : 8-16.
- JONES, J. W. - GAJAN, R. J. - BOYER, K. W. - FIORINO, J. A.: Dry-ash-voltammetric determination of cadmium, copper, lead and zinc in foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 60, 1977 : 826-832.

- JÖNSSON, H.: Determination of lead and cadmium in milk with modern analytical methods. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.*, 160, 1976 : 1-10.
- MADER, P. - MUSIL, J. - ČURDOVÁ, E. - KOREČKOVÁ, J. - CIBULKA, J.: Porovnání stanovení olova a kadmia v živočišných tkáních metodami atomové absorpční spektrometrie a diferenční pulsní anodické rozpouštěcí voltametrie. *Chem. Listy*, 81, 1987 : 1190-1198.
- NANGNIOT, O.: Applications of polarographic and voltammetric analysis in the fields of agriculture and alimentation. *Trends Anal. Chem.*, 4, 1985 : 155-161.
- NARRES, H. D. - VALENTA, P. - NÜRNBERG, H. W.: Die voltammetrische Bestimmung von Schwermetallen in Fleisch und inneren Organen von Schlachtrindern. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.*, 179, 1984 : 440-446.
- NÜRNBERG, H. W.: Voltammetric trace analysis in ecological chemistry of toxic metals. *Pure Appl. Chem.*, 54, 1982 : 853-878.
- PRUGAROVÁ, A. - KOVÁČ, M.: Stanovenie olova v rafinovanom cukre diferenčnou pulznou rozpúšťacou voltametrou. *Potrav. Vědy*, 3, 1985 : 35-40.
- SATZGER, R. D. - CLOW, C. S. - BONNIN, E. - FRICKE, F. L.: Determination of background levels of lead and cadmium in raw agricultural crops by using differential pulse anodic stripping voltammetry. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 65, 1982 : 987-991.
- SULEK, A. M. - ELKINS, E. R. - ZINK, E. W.: Lead in evaporated milk by anodic stripping voltammetry and atomic absorption spectrophotometry: cooperative interlaboratory study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 61, 1978 : 931-936.
- AOAC: WILLIAMS, S. (Ed.): Official methods of analysis of the Association of official Analytical Chemists. 14th ed. 1984.
- ČSN 56 0065. Metody mineralizace vzorků před stanovením obsahu těžkých kovů v poživatinách. 19XX.

Došlo dne 10. 10. 1991

*R. Koplík, Š. Němcová (Institute of Chemical Technology, Praha, Czech Republic)***Determination of cadmium, lead, copper and zinc in foodstuffs**

An analytical procedure for determination of cadmium, lead, copper and zinc based on voltammetric measurements is presented. The analysis utilizes differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) for cadmium, lead and copper determination and differential pulse polarography (DPP) for zinc determination. The used supporting electrolytes were 0.1 mol/l  $\text{HNO}_3$  or 0.3 mol/l  $\text{HCl}$  for cadmium, lead and copper, and a weakly acidic electrolyte containing acetate or tartarate for zinc.

The DPASV method was used for simultaneous determination of cadmium and lead (Fig. 1). The metals were preconcentrated by electrolysis from the stirred solution at a hanging mercury drop electrode - HMDE (area  $0.007 \text{ cm}^2$ ) with a potential  $-0.7 \text{ V}$  vs.  $\text{Ag}(\text{AgCl})$  sat.  $\text{KCl}$ -electrode. Long deposition times (up to 10 minutes) were necessary for determination of ultratrace cadmium levels.

Separate determination of cadmium and simultaneous determination of lead and copper were carried out in some cases (Fig. 2). The choice of procedure for the determination of these three elements depends on the ratio of their concentrations.

Higher concentrations of copper (about 1  $\mu\text{g/l}$ ) were also determined by DPASV, but the electrolysis at -0.2 V was carried out only 30 s without stirring. The electrolyte 0.1 mol/l  $\text{HNO}_3$  (Fig. 3) is more suitable for copper determination.

Zinc was determined by DPP after addition of sodium acetate or tartarate solutions to the acidic sample solution (Fig. 4).

The main method used for sample pretreatment was dry ashing at a gradually increased temperature to the maximum 450  $^\circ\text{C}$  with a rate of 50  $^\circ\text{C}$  per hour. In order to check the reliability of the analytical procedure based on dry ashing and voltammetric measurement, the sample of soybean seeds was subjected to wet digestion in  $\text{HNO}_3$ - $\text{H}_2\text{SO}_4$ - $\text{HClO}_4$  mixture and voltammetric analysis of this digest was performed. The same sample was also analysed by dry ashing and flame AAS. The results are shown in Table I.

When the sample weight of 5 g was used, the detection limits of cadmium, lead, copper and zinc achieved in the ordinary chemical laboratory for the whole procedure (dry ashing and voltammetric determination) were 0.001, 0.20, 0.50 and 0.15 mg/kg, respectively. The above described procedure was used for determination of cadmium, lead, copper and zinc in several kinds of food samples and agricultural products. The results are summarized in Table II.

cadmium; lead; copper; zinc; voltammetry; food

## VPLYV UDIACEHO PREPARÁTU (UTP-1) NA RAST ŠTARTOVACÍCH KULTÚR PRE FERMENTOVANÉ MÄSOVÉ VÝROBKÝ A NA RAST *ESCHERICHIA COLI*

Ladislav STARUCH, Samuel BÁN, Vladimír HERIBAN

Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

Sledovali sme vplyv udiaceho preparátu (UTP-1) na mikroflóru vyskytujúcu sa vo fermentovaných mäsoých výrobkoch. Koncentrácia UTP-1 bola 0, 50, 80, 100, 200 miligramov fenolov na kilogram (mg F/kg). Mikroorganizmy boli testované metódou rastových kriviek. Z výsledkov vyplynulo, že najmenej citlivá na UTP-1 je štartovacia kultúra S-LAC-1 a *L. plantarum*. Menej odolné boli *L. delbrueckii* a *P. acidilactici*. Veľmi citlivý na UTP-1 bol sledovaný *L. casei* a len o málo menej citlivý bol sledovaný kmeň *E. coli*. Rast štartovacej kultúry Lactil nebol za použitých podmienok ovplyvnený do koncentrácie 50 mg F/kg, avšak pri koncentrácii 80 až 200 mg F/kg bola táto kultúra mimoriadne citlivá.

UTP-1; štartovacie kultúry; mikroorganizmy

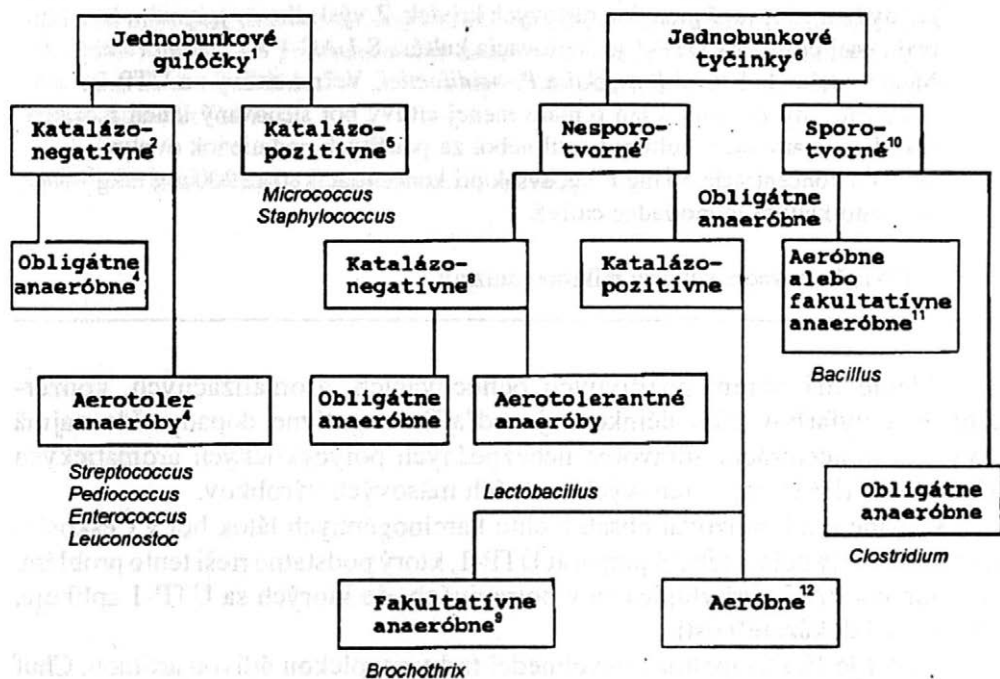
Údenie má okrem pozitívnych ochucovacích, aromatizačných, konzervačných a vyfarbovacích účinkov aj vedľajšie negatívne dopady. Ide najmä o zvýšenú koncentráciu zdravotne nebezpečných polycyklických aromatických uhľovodíkov (PAU) v povrchových vrstvách mäsoých výrobkov.

V snahe minimalizovať obsah týchto karcinogénnych látok bol v Československu vyvinutý udiaci tekutý preparát UTP-1, ktorý podstatne rieši tento problém. Koncentrácia PAU vyskytujúca sa v potravinách, do ktorých sa UTP-1 aplikuje, je na hranici dokázateľnosti.

UTP-1 je číra kvapalina tmavohnedej farby s typickou údivou arómou. Chuť vodného roztoku je príjemne údivá bez horkastého doznievania. Koncentrácia fenolov má byť minimálne 10 g/kg, pomer gvajakolu a syringolu má byť minimálne 0,8 a hodnota pH maximálne 6,5 (D u b r a v i c k ý, 1983).

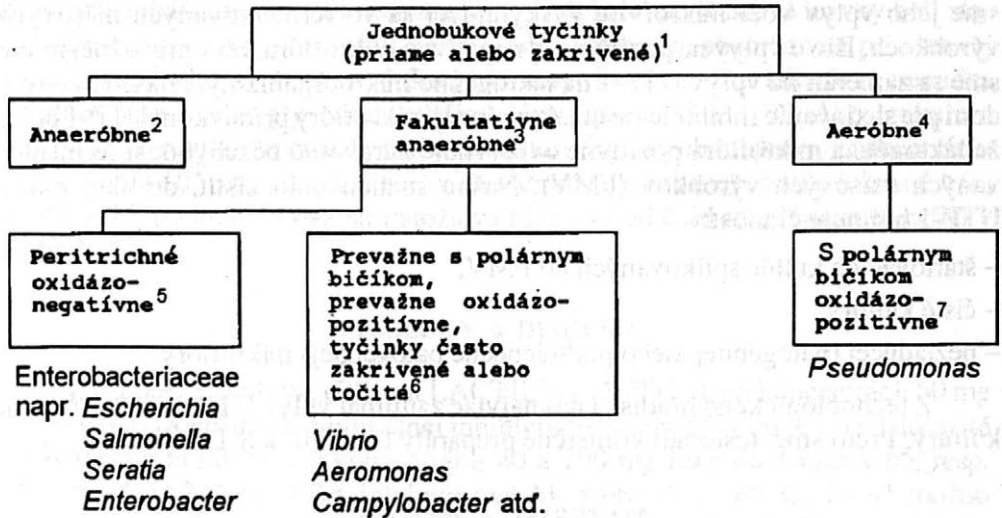
Tepelne neopracované mäsové výrobky tvoria tú skupinu výrobkov, pri výrobe ktorých je vynechané pôsobenie vyšších teplôt (údenie studeným dymom do 20 °C). Samotná výroba sa zakladá na komplexných fermentačných a chemických postupoch s výraznou spoluúčasťou žiadúcej mikroflóry. Mikroorganizmy ovplyvňujú vlastnosti potravín prostredníctvom ich metabolickej aktivity a dávajú produktom ich charakteristické sensorické vlastnosti. Najdôležitejšie z týchto mikroorganizmov patria do rodov *Lactobacillus*, *Micrococcus* a *Pedio-coccus*. Napr. mliečne baktérie sa pridávajú do fermentovaných mäsoých

výrobkov na zlepšenie farby, arómy, konzistencie a zároveň napomáhajú vytvoreniu dobrej údržnosti salámy (C o r e t t i, 1977; L ü c k e, H e c h e l m a n, 1987). Nemôžeme si byť stále istí, že surový materiál použitý na výrobu výrobkov neobsahuje aj nežiadúce patogénne mikroorganizmy. Obr. 1 a 2 ukazujú v zjednodušenej forme, ktoré baktérie (gram-pozitívne, gram-negatívne) sú pre mäso a pre mäsové výrobky dôležité. Čerstvé mäso získané za hygienických podmienok, prevažne obsahuje menej ako  $10^4$  mikroorganizmov na  $1\text{ cm}^2$  povrchu, pričom prevláda čelad Micrococcaceae. Existuje množstvo faktorov determinujúcich, ktoré mikroorganizmy môžu rásť na mäse a mäsových výrobkoch. Patrí k nim teplota,  $a_w$  a pH hodnota, prítomnosť vzdušného kyslíka a určitých aditív, ako sú dusitany, dusičnany a komponenty dymu.



<sup>1</sup>monocell globules; <sup>2</sup>catalase-negative; <sup>3</sup>obligatorily anaerobic; <sup>4</sup>aerotolerant anaerobes; <sup>5</sup>catalase-positive; <sup>6</sup>monocell stamens; <sup>7</sup>non-spore-forming; <sup>8</sup>catalase-negative; <sup>9</sup>optionally anaerobic; <sup>10</sup>spore-forming; <sup>11</sup>aerobic or optionally anaerobic; <sup>12</sup>aerobic

1. Rozdelenie gram-pozitívnych baktérií dôležitých pre mäso a mäsové výrobky (L ü c k e, 1986) – Division of gram-positive bacteria important for meat and meat products (L ü c k e, 1986)



<sup>1</sup>monocell stamens (straight or curved); <sup>2</sup>anaerobic; <sup>3</sup>optionally anaerobic; <sup>4</sup>aerobic; <sup>5</sup>peritrichous oxidase-negative; <sup>6</sup>prevalingly with polar flagellum, prevalingly oxidase-positive, stamens often curved or spiral; <sup>7</sup>with polar flagellum and oxidase-positive

2. Rozdelenie gram-negatívnych baktérií dôležitých pre mäso a mäsové výrobky (L ü c k e, 1986) - Division of gram/negative bacteria important for meat and meat products (L ü c k e, 1986)

Údenie má nepriaznivejší vplyv na čeľaď Micrococcaceae ako na Lactobacillaceae. Čeľaď Micrococcaceae potrebuje kyslík, takže sa najlepšie rozvíja vo vrstve výrobkov bližšej k povrchu, kde je samozrejme aj viac vystavená účinkom dymu (L ü c k e, 1986).

Mliečne baktérie svojou produkciou kyseliny mliečnej potláčajú rast neželateľných mikroorganizmov. Rápidny pokles pH na hodnotu 5,3 je dostatočný na inhibíciu *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* a hnilobných baktérií. Za určitých podmienok dochádza taktiež v malých množstvách k produkcii kyseliny octovej a peroxidu vodíka, ktorý je vo fermentovaných salámach nežiadúci, lebo môže spôsobiť chyby vo farbe a rýchlu stuchnutosť. Ani schopnosť niektorých rodov produkovať bakteriocíny a antibiotiká nie je želateľná, pretože v intestinálnej flóre vyvoláva antibiotickú rezistenciu. Preto sa veľký dôraz kladie na výber rodu a kmeňa, ktorý sa uplatní v štartovacej kultúre (S c h i l l i n g e r, L ü c k e, 1990).

Poznáme celý rad antimikróbných látok (konzervačné, dezinfekčné), ktorých účinok môže byť mikrobicídny, alebo mikrobistatický. Koncepcia našich experimentov v podstate stotožňuje UTP-1 s antibakteriálnou zlúčeninou. Testovali

sme jeho vplyv voči mikroflóre vyskytujúcej sa vo fermentovaných mäsových výrobkoch. Išlo o vplyv na pozitívnu aj negatívnu mikroflóru, no v prevažnej miere sme sa zamerali na vplyv UTP-1 na laktogénne mikroorganizmy. Hlavným dôvodom pre sledovanie inhibície rastu laktogénnej mikroflóry prídavkom UTP-1 bolo, že laktogénna mikroflóra pozitívne ovplyvňuje zdravotnú bezchybnosť fermentovaných mäsových výrobkov (FMV). Našou snahou bolo zistiť, do akej miery UTP-1 inhibuje činnosť:

- štartovacích kultúr aplikovaných do FMV,
- čisté kultúry,
- nežiadúcej (patogénnej alebo podmienenéne patogénnej) mikroflóry.

Z technologického hľadiska nás najviac zaujímal vplyv UTP-1 na štartovacie kultúry. Preto sme testovali komerčné preparáty LACTIL a S-LAC-1.

### MATERIÁL a METÓDY

Pri experimentálnej práci bol použitý základný materiál potrebný pre aseptickú prácu v mikrobiologickom laboratóriu. Mikrobiologickým testom boli podrobené tieto mikroorganizmy:

- |                                    |             |
|------------------------------------|-------------|
| - <i>Lactobacillus plantarum</i>   | ATCC - 8014 |
| - <i>Lactobacillus casei</i>       | ATCC - 7469 |
| - <i>Lactobacillus delbrueckii</i> | ATCC - 7836 |
| - <i>Pediococcus acidilactici</i>  | ATCC - 8081 |
| - <i>Escherichia coli</i>          | ATCC - 5172 |
| - štartovacia kultúra LACTIL       |             |
| - štartovacia kultúra S-LAC-1      |             |

Tieto mikroorganizmy boli vybrané ako predstavitelia najčastejšie sa vyskytujúcich mikroorganizmov vo fermentovaných mäsových výrobkoch.

S-LAC-1 (*Lactobacillus plantarum* CCM - 4213) bol vyvinutý vo Výskumnom ústave potravinárskom v Modre. Obsahuje  $2,5 \cdot 10^{11}$  počtu buniek (p.b.) v 1 ml. Výrobca odporúča dávkovanie  $5 \cdot 10^7$  p.b. na 1 g diela. Medzi prednosti patrí rýchly nástup fermentácie a zvýšená produkcia kyseliny mliečnej v prvých troch dňoch zrenia.

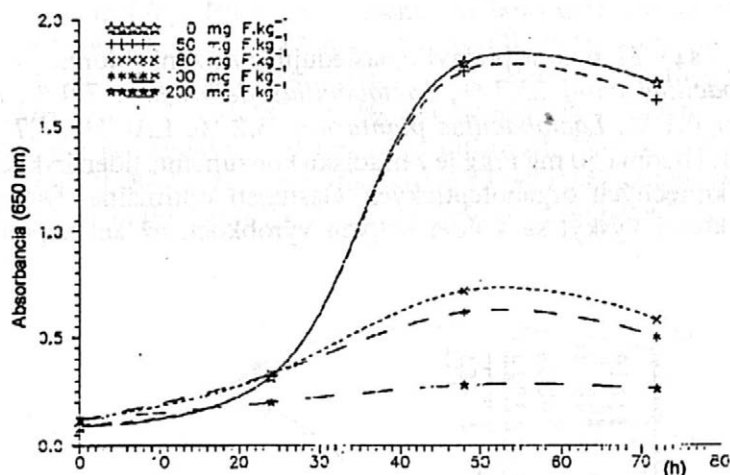
Testovaná štartovacia kultúra LACTIL (*Lactobacillus* sp. VÚMP - CCM - 3768) bola vyvinutá vo Výskumnom ústave masného průmyslu v Brne.

Mikroorganizmy boli kultivované v tekutej MRS pôde (M a n et al., 1960). Použité koncentrácie UTP-1 boli 50, 80, 100, 200 miligramov fenolov na kilogram (mg F/kg). Z množstva metód, ktoré sa používajú pri stanovení inhibičného účinku

aditívnych látok, sme použili meranie rastových kriviek. Rastové krivky boli stanovené pri trepačkovej kultivácii v MRS pôde, meraním absorbancie pri vlnovej dĺžke absorpčného maxima príslušnej biomasy. Bola použitá kúpeľová trepačka s náplňou zriedeného glycerínu, udržiavajúca teplotu  $37 \pm 1$  °C. Ako inokulum bola použitá revitalizovaná (pasážovaná) kultúra. Východisková koncentrácia biomasy bola  $10^7$  p.b. v 1 ml. Vzorky na meranie absorbancie boli odobrané v 0., 24., 48. a 72. hodine. Závislosti množstva biomasy od času sú zobrazené graficky na obr.3 až 9.

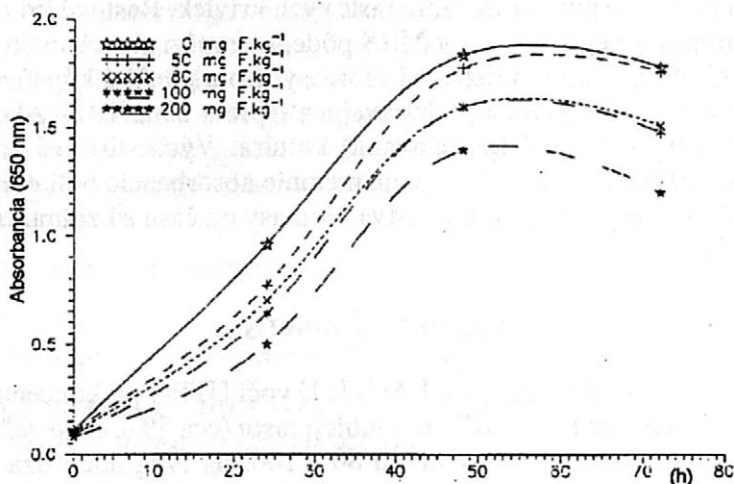
### VÝSLEDKY a DISKUSIA

Ako z obr. 3 vyplýva, citlivosť LACTILU voči UTP-1 pri koncentrácii 50 mg F/kg je malá. Dochádza k minimálnej inhibícii rastu (cca 5%), čo je veľmi dôležité z praktického hľadiska. Pri koncentrácii 80 a 100 mg F/kg dochádza k 65, resp. 70% inhibícii, 200 mg F/kg inhibuje rast biomasy už na 80 %, čo už možno považovať za bakteriostatický, eventuálne baktericídny účinok. Rastová krivka



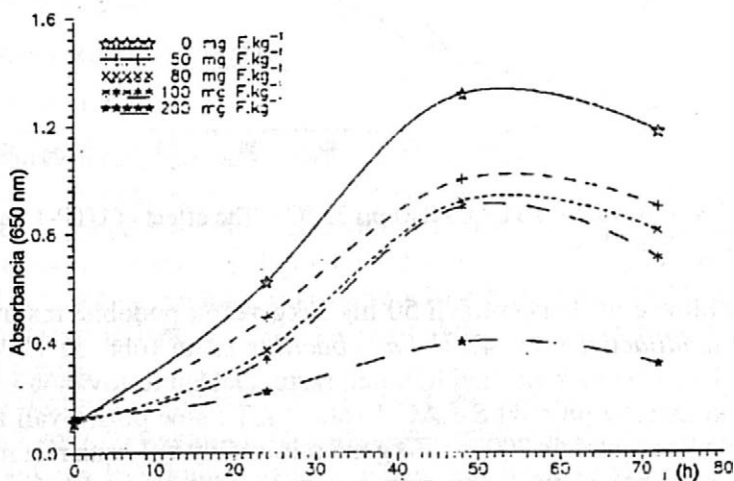
### 3. Vplyv UTP-1 na rastovú krivku LACTILU pri 35 °C – The effect of UTP-1 on the growth curve of LACTILUS at 35 °C

LACTILU je hlavne pri koncentrácii 50 mg F/kg veľmi podobná rastovej krivke *Pediococcus acidilactici* (obr. 4). U *Lactobacillus casei* (obr. 5) však pri tejto koncentrácii dochádza už k značnej inhibícii rastu. Ďalšou testovanou štartovacou kultúrou bol komerčný produkt S-LAC-1 (obr. 6). Tu sme pozorovali zaujímavý stav. UTP-1 do koncentrácie 200 mg F/kg má minimálny vplyv na rast mikroorganizmov. Takmer zhodné výsledky sme namerali pri testovaní baktérie *Lactobacillus plantarum* (obr. 7). Inhibičný účinok UTP-1 na baktériu *Lactobacillus delbrueckii* (obr. 8) bol do koncentrácie 100 mg F/kg nízky. Pri koncentrácii 50 mg

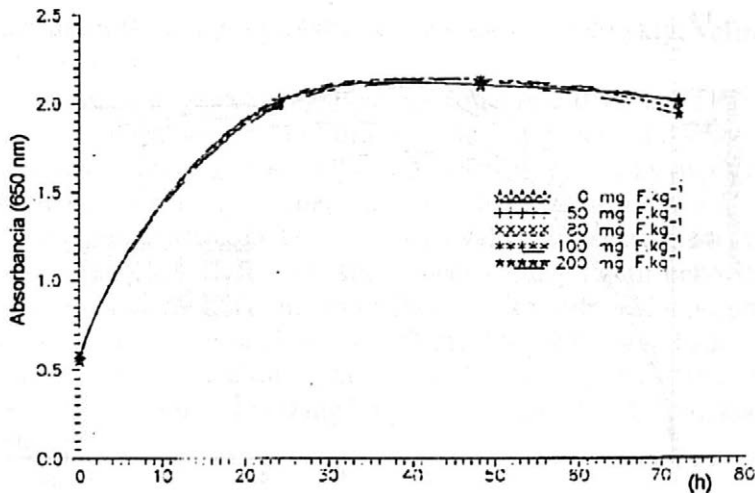


4. Vplyv UTP-1 na rastovú krivku *P. acidilactici* pri 35 °C – The effect of UTP-1 on the growth curve of *P. acidilactici* at 35 °C

F/kg UTP-1 sa v 72. hodine prejavilo nasledujúce zníženie biomasy oproti kontrole: *Lactobacillus casei* 23,7 %, *Lactobacillus delbrueckii* 7,9 %, *Pediococcus acidilactici* 6,1 %, *Lactobacillus plantarum* 5,2 %, LACTIL 4,7 % a nulový u S-LAC-1. Hladina 50 mg F/kg je z hľadiska konzumenta údenárskych výrobkov, resp. ich konečných organoleptických vlastností optimálna. Ďalšou kritickou hladinou, ktorej výskyt sa v údenárskych výrobkoch už ani nepredpokladá, je

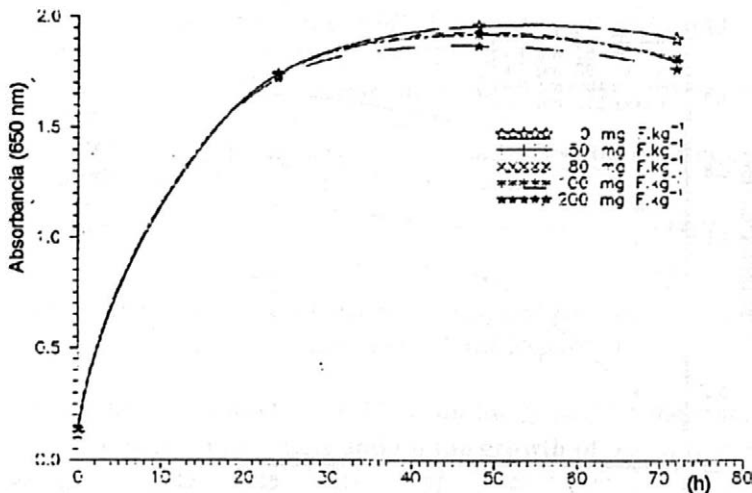


5. Vplyv UTP-1 na rastovú krivku *L. casei* pri 35 °C – The effect of UTP-1 on the growth curve of *L. casei* at 35 °C

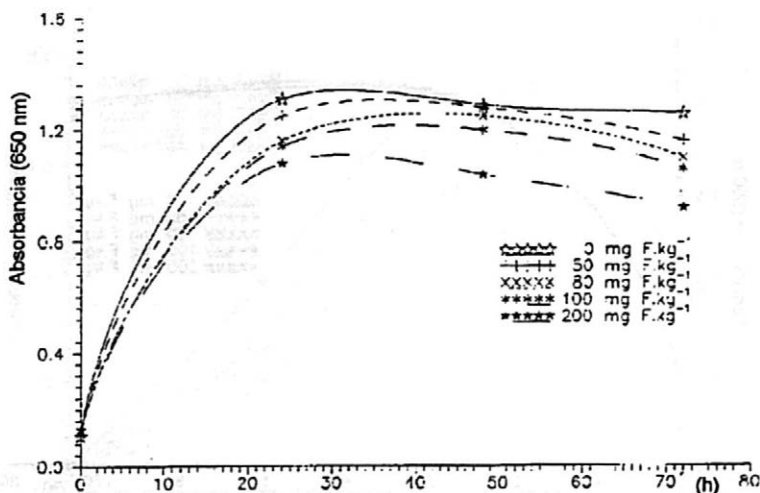


6. Vplyv UTP-1 na rastovú krivku S-LAC-1 pri 35 °C – The effect of UTP-1 on the growth curve of S-LAC-1 at 35 °C

koncentrácia 100 mg F/kg. Pri tejto koncentrácii bolo detekované nasledovné zníženie biomasy oproti kontrole v 72. hodine: LACTIL 75 %, *Lactobacillus casei* 40 %, *Pediococcus acidilactici* 17 %, *Lactobacillus delbrueckii* 15,8 %, *Lactobacillus plantarum* 5,2 %, S-LAC-1 0 %. Pri koncentrácii 200 mg F/kg sme sledovali extrémne podmienky prežitia, resp. citlivosti. Výsledky úbytku boli nasledujúce: LACTIL 84 %, *Lactobacillus casei* 73 %, *Pediococcus acidilactici* 33 %, *Lactobacillus delbrueckii* 27 %, *Lactobacillus plantarum* 7 %, S-LAC-1

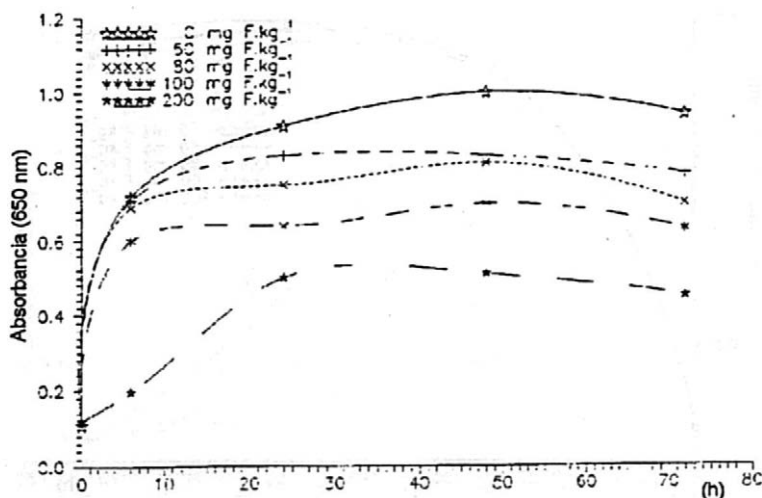


7. Vplyv UTP-1 na rastovú krivku *L. plantarum* pri 35 °C – The effect of UTP-1 on the growth curve of *L. plantarum* at 35 °C



8. Vplyv UTP-1 na rastovú krivku *L. delbrueckii* pri 35 °C – The effect of UTP-1 on the growth curve of *L. delbrueckii* at 35 °C

4 %. *Escherichia coli* je vo všeobecnosti indikátorom fekálneho znečistenia. Baktericídny, resp. statický účinok UTP-1 naň by v značnej miere ovplyvnil zdravotnú bezchybnosť mäsových výrobkov. Aj tu sme *E. coli* (obr. 9) podrobili testu na senzibilitu na štyroch rôznych hladinách prídavku UTP-1. Pri koncentrácii 50 mg F/kg je pokles až o 17,0 % v 72. hodine oproti kontrole. Pri koncentrácii 80, resp. 100 mg F/kg je tento pokles oproti kontrole o 25 %, resp. 33 %. Až pri koncentrácii 200 mg F/kg sa prejavuje voči technologicky nežiadúcej, fakultatívne



9. Vplyv UTP-1 na rastovú krivku *E. coli* pri 35 °C – The effect of UTP-1 on the growth curve of *E. coli* at 35 °C

patogénnej mikroflóre, ktorej výskyt v diele nie je neobvyklý, veľmi silný anti-mikrobiálny účinok.

Z výsledkov jednoznačne vyplýva, že najmenej citlivá na UTP-1 vo všetkých koncentráciách je štartovacia kultúra S-LAC-1 z produkcie VÚP Modra a *L. plantarum*. Rast obidvoch kultúr nebol v MRS pôde prakticky ovplyvnený ani pri koncentrácii 200 mg F/kg. Menej odolné boli *L. delbrueckii* a *P. acidilactici*. Mimoriadne vysokú citlivosť k UTP-1 vykazoval *L. casei* a trochu menšiu citlivosť mal sledovaný kmeň *E. coli*. Rast štartovacej kultúry Lactil nebol za použitých podmienok ovplyvnený koncentráciou 50 mg F/kg, odporúčanou pre údenárske výroby, avšak pri koncentrácii 80 až 200 mg F/kg bola táto štartovacia kultúra mimoriadne citlivá. V ďalšom štúdiu hodláme pozorovať štartovacie kultúry v rozmedzí koncentracii 50 až 80 mg F/kg a zistiť ich prah citlivosti, kedy dochádza k rapídному poklesu.

### Literatúra

CORETTI, K.: Startekulturen für Rohwurst und Rohshinken. Fleischwirtschaft, 57, 1977 : 386-394.

DUBRAVICKÝ, J. a kol.: Výskum technológie výroby nového udiaceho preparátu, jeho technologických a organoleptických účinkov na akosť výrobkov. [Výskumná správa.] Bratislava, CHTF STU 1985 : 85-159.

LIEPE, H. U. et al.: Influence of sugars and bacteria on dry sausage souring. Fleischwirtschaft, 70, 1990 : 189-192.

LÜCKE, F. K.: Microbiological processes in the manufacture of dry sausage and raw ham. Fleischwirtschaft, 66, 1986 : 1505-1509.

LÜCKE, F. K. - HECHELMANN, N.: Starter cultures for dry sausages and raw ham. Fleischwirtschaft, 67, 1987 : 307-314.

MAN, J. C. de - ROGOSA, M. - SHARPE, M. E.: A medium for the cultivation of lactobacilli. J. Appl. Mikrobiol., 23, 1960 : 130-135.

SCHILINGER, U. - LÜCKE, F. K.: Lactic acid bacteria as protective cultures in meat products. Fleischwirtschaft, 70, 1990 : 1296-1299.

STIEBING, A. - RÖDEL, W.: Influence of relative humidity on the ripening of dry sausage. Fleischwirtschaft, 68, 1988 : 1287-1291.

Došlo dňa 13. 4. 1992

*L. Staruch, S. Bán, V. Heriban (Faculty of Chemical Technology of the Slovak University, Bratislava, Slovak Republic)*

### The effect of smoking preparation (UTP-1) on the growth of the starter cultures for fermented meat products and on the growth of *Escherichia coli*

We have estimated the influence of the different amounts of smoking preparation UTP-1 on the microorganisms occurring in the fermented meat products. Phenol concentrations 0, 50, 80, 100 and 200 mg per kg (mg F/kg) were used. The phenol

influence on the microflora was estimated using growth curve measurements. On the base of our results we can conclude, that the cultures less sensitive to phenols are S-LAC-1 and *L. plantarum*. Among less sturdy cultures were *L. delbrückii* and *P. acidilacti*, *L. casei* was very sensitive and *E. coli* showed almost the same sensitivity. The growth of the starter culture Lactil was not influenced up to 50 mg F/kg, but in the phenol concentration ranging from 80 to 200 mg F/kg, the cell growth was apparently influenced.

smoking preparation UTP-1; starter ci;tires; microorganisms

## VPLYV OHREVV NA OBSAH BENZO(A)PYRÉNU V ÚDENÝCH MÄSOVÝCH VÝROBKOKH

Peter ŠIMKO, Jozef KNEŽO

*Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava*

V práci bol sledovaný vplyv ohrevu na obsah benzo(a)pyrénu v dvoch technologicky odlišných údených mäsových výrobkoch, pričom na detekciu BaP bola použitá metóda HPLC so selektívnou fluorimetrickou detekciou. Zatiaľ čo v prípade vzorky Domáca klobása bol zaznamenaný značný pokles v obsahu BaP už v prvých 15 minútach ohrevu (zo 4,80 µg/kg na 1,87 µg/kg), v prípade vzorky Jemné párky bol obsah BaP prakticky na konštantnej úrovni (1,36 µg/kg) počas celej doby ohrevu. Ako vyplynulo z výsledkov experimentu, rozhodujúci vplyv na úbytok obsahu BaP v údenej klobáse malo množstvo tuku vytavovaného zo vzorky počas ohrevu, v ktorom bola po ukončení experimentu zistená hodnota 7,71 µg/kg.

údené mäsové výrobky; HPLC; benzo(a)pyrén; tuk

Aromatizácia mäsových produktov splodinami termickej deštrukcie drevnej hmoty je jedna zo základných technologických operácií používaných v mäsovom priemysle. V priebehu generácie údiaceho dymu vznikajú nielen sensoricky aktívne zlúčeniny - fenolické zlúčeniny, karbonyly, organické kyseliny, laktóny, pyrazíny, ale aj zlúčeniny s výrazným karcinogénnym účinkom (T ó t h, 1983; M a g a, 1987).

Jednou z najnebezpečnejších skupín chemických zlúčenín, vznikajúcich v priebehu vyvíjania údiaceho dymu sú polycyklické aromatické uhľovodíky (PAU), pričom ich množstvo, ako aj kvalitatívne zloženie závisí od mnohých faktorov (T ó t h, B l a a s, 1972; P o t t h a s t, 1978; Š i m k o et al., 1991a).

Charakteristickou zlúčeninou PAU je benzo(a)pyrén (BaP). Aj napriek skutočnosti, že BaP tvorí len nepatrnú časť z celkového množstva PAU [jeho zastúpenie kolíše v rozmedzí 1 až 20 % zo všetkých karcinogénnych PAU (A n d e l m a n, S u e s s, 1970)], vzhľadom k jeho mimoriadne vysokej karcinogénnej aktivite je vo všeobecnosti považovaný za indikátor výskytu celkového množstva PAU v potravinách (K r u i j f et al., 1987). Navyše BaP na rozdiel od iných PAU je typickým produktom nedokonalého spaľovania organickej hmoty.

Efektívnou metódou stanovenia PAU je HPLC, pričom na detekciu sa využíva schopnosť absorbovať svetlo v UV oblasti, či poskytovať silné fluorescenčné žiarenie. HPLC bola použitá na stanovenie PAU v údených a grilovaných mäsiach, ako aj v ďalších potravinárskych produktoch či potravinárskych aditívach

(Silvester, 1980; Gertz, 1981; Lawrence, Weber, 1984; Stijve, Hischenhuber, 1987; Šimko, 1992).

Problematika vzniku, stanovenia a výskytu PAU v potravinách bola už široko diskutovaná (Howard, Fazio, 1980; Fretheim, 1983; Stahl, Eisenbrand, 1988).

V nedávnej dobe sa obsah PAU v potravinách chápal ako konštantná hodnota, nezávislá od vplyvov okolitého prostredia.

Cieľom práce bolo sledovať zmeny v obsahu BaP v dvoch technologicky odlišných údených mäsových výrobkoch počas ich ohrevu a nájsť faktory, ktoré tento obsah môžu ovplyvňovať.

## MATERIAL a METÓDY

**Materiál:** V experimente boli ohrevu vo vriacej vode podrobené nasledujúce vzorky:

1 – Domáca klobása, ktorá je vyrábaná z vykosteného bravčového pliecka, stehna a bôčiku. Zomleté mäso sa po zmiešaní s NaCl, paprikou a korením naráža do prírodných obalov a údi horúcim dymom.

2 – Jemné párky, ktoré sú vyrábané z hovädzieho a bravčového mäsa. Jednotlivé druhy mias sa spolu s ingredienciami vypracujú na jemno v kutri a dielo je narážané do obalov. Po osušení a údení horúcim dymom sú párky ešte dovárané vo vodnej pare.

**Experiment:** Po získaní údených mäsových výrobkov ich zakúpením v maloobchodnej sieti boli vzorky vložené do vriacej vody a teplotné médium bolo udržiavané v miernom varení počas celého experimentu. Postupne odoberané vzorky boli ochladzované, balené do alumíniovej fólie a skladované pri teplote 2 °C, pokiaľ sušina, tuk a BaP nebol stanovený. BaP bol tiež stanovený vo vytavenom tuku vzorky Domáca klobása, v obale a olúpanej klobáse osobitne.

**Chemikálie a roztoky:** Štandard BaP a Florisil bol získaný od fy Supelco. BaP bol rozpustený v metanole na koncentráciu 1 µg/ml. Všetky organické rozpúšťadlá (acetonitril, metanol, hexán, petroléter) boli pred použitím rektifikované v destilačnej aparatúre. Deionizovaná voda bola ešte dočisťovaná v zariadení Barnstead Nanopur System od fy Wilhelm Werner.

**Príprava vzorky:** Hmotnosť sušiny bola stanovená sušením homogenizovanej vzorky do konštantného úbytku hmotnosti pri 105 °C. Hmotnosť tuku bola stanovená po extrakcii vysušenej vzorky v Twisselmanovom prístroji diferenčným vážením extrakčnej banky.

Na stanovenie BaP bola vzorka upravená nasledovným postupom: 30 g homogenizovanej vzorky bolo zmydelňované pod spätným chladičom pomocou metanolickeho roztoku KOH (11,2 g KOH, 90 ml metanolu a 10 ml vody). Po uplynutí 3 h bol obsah banky ochladený a ku vzorke sa pridalo 100 ml zmesi metanol - voda

(8 : 2, v/v). Vzorka bola potom postupne extrahovaná 3 x 50 ml hexanu a spojené hexánové podiely boli opäť premyté 100 ml zmesi metanol - voda (8 : 2, v/v) a 2 x 100 ml vody. Následne bolo k extraktu pridané 100 ml 10% roztoku  $\text{Na}_2\text{WO}_4$  za účelom vyvrážania preextrahovaných lipoproteínov. Po oddelení hexánovej vrstvy zrazenina bola ešte dekantovaná 100 ml hexánu, ktorý bol pridaný k hlavnému podielu. Po opätovnom vyvrážaní zvyškov lipoproteínov a vysušení cyklohexánového extraktu prepustením cez vrstvu bezvodého  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  bol extrakt zahustený na rotačnej vákuovej odparke na objem 1 ml. Koncentrovaný extrakt bol nanosený na florisilovú kolónku (2,5 g Florisilu bolo deaktivované prídavkom 5 %  $\text{H}_2\text{O}$ ) a frakcia PAU bola eluovaná 165 ml hexánu. Eluát bol na rotačnej vákuovej odparke odparený do sucha a odparok bol rozpustený a doplnený na objem 2,5 ml metanolom.

**Podmienky HPLC:** BaP bol stanovený za nasledovných podmienok: chromatografická kolóna plnená stacionárnou fázou Separon SGX C18 o zrnitosti 5  $\mu\text{m}$ , dĺžka 30 cm, priemer 3 mm, mobilná fáza acetonitril - voda v objemovom pomere 3 : 1 a prietokom 1,15 ml/min. Eluent z chromatografickej kolóny bol vedený do fluorescenčného detektora (Perkin-Elmer), excitačná vlnová dĺžka 310 nm, emisná vlnová dĺžka 410 nm.

Všetky analytické stanovenia boli uskutočnené paralelne.

## VÝSLEDKY a DISKUSIA

Aby bolo možné sledovať zmeny v obsahu BaP, predovšetkým bolo potrebné overiť účinnosť extrakcie BaP ako aj celkovú výťažnosť metódy. Za týmto účelom bol ku vzorkám pridávaný štandard BaP v množstve rovnajúcom sa koncentrácii 3,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . V prípade vzorky Domáca klobása bola zaznamenaná priemerná výťažnosť 84,9 % so štandardnou odchýlkou 5,9 %, zatiaľ čo vo vzorke Jemné párky bola zaznamenaná výťažnosť 79,3 % so štandardnou odchýlkou 6,7 %.

Za daných chromatografických podmienok dochádza k účinnej separácii BaP od ostatných PAU (vrátane iných zlúčenín s piatimi aromatickými jadrami - benzo(e)pyrén, dibenzo(a,c)antracén, dibenzo(a,h)antracén, indeno(1,2,3-c,d)pyrén) (Š i m k o et al., 1991b).

**Vzorka Domáca klobása:** Namerané hodnoty zmien obsahu BaP v závislosti od doby ohrevu sa nachádzajú v tab. I. Ako vyplýva z nameraných hodnôt, graficky znázornených na obr. 1 - krivka A, závislosť má nelineárny charakter, a preto bolo hľadané optimálne matematické vyjadrenie priebehu tejto funkcie porovnávaním korelačných koeficientov (KK). Najvhodnejšiu rovnicu, relatívne najpresnejšie popisujúcu priebeh funkcie, možno vyjadriť vzťahom

$$Y = \frac{1}{a + bX} \quad [1]$$

Táto rovnica bola pre konkrétny prípad upravená do tvaru

$$Y = a' + \frac{b'}{X + c'} \quad [2]$$

kde:  $Y$  - obsah BaP v  $\mu\text{g}$  na kg údeného mäsového výrobku, tepelne opracovávaného v čase  $X$

Hoci korelačný koeficient je relatívne vysoký ( $KK_A = 0,96467$ ), jeho hodnota bola nepriaznivo ovplyvnená ďalšími dvoma faktormi.

Prvý faktor vyplýva zo skutočnosti, že v priebehu ohrevu sa mení v dôsledku denaturácie bielkovín ich schopnosť viazať vodu, čo následne ovplyvňuje samotnú hmotnosť vzorky. Tento faktor možno eliminovať prepočítaním obsahu BaP na sušinu. Graficky je táto skutočnosť na obr. 1 znázornená krivkou B. I vyššia hodnota korelačného koeficientu ( $KK_B = 0,98056$ ) potvrdzuje „rušivý“ vplyv meniacej sa väznosti počas experimentu na priebeh funkcie.

Druhý, ďaleko dôležitejší faktor je skutočnosť, že počas ohrevu vzorky Domáca klobása dochádzalo k uvoľňovaniu a vytavovaniu tuku. Zmeny obsahu tuku, uvádzané v tab. I, sú graficky znázornené na obr. 2 ( $KK = 0,97285$ ). Pretože je známe, že nepolárne PAU difundujú do mäsových výrobkov po skončení údenia (Š i m k o, 1991) a prednostne by mali byť lokalizované v nepolárnych častiach výrobku (tukové tkanivo, vytavený tuk nachádzajúci sa pod obalom a pod.), mal by byť obsah BaP vo vzorke po ukončení experimentu značne ovplyvnený množstvom tuku, vytaveného zo vzorky počas ohrevu. Tieto predpoklady potvrdzujú aj výsledky, ktoré sú uvedené v tab. II.

I. Stanovenie sušiny, tuku a benzo(a)pyrénu (BaP) vo vzorke Domáca klobása — The determination of dry matter, fat and benzo(a)pyrene (BaP) in the sample "Domestic Sausage"

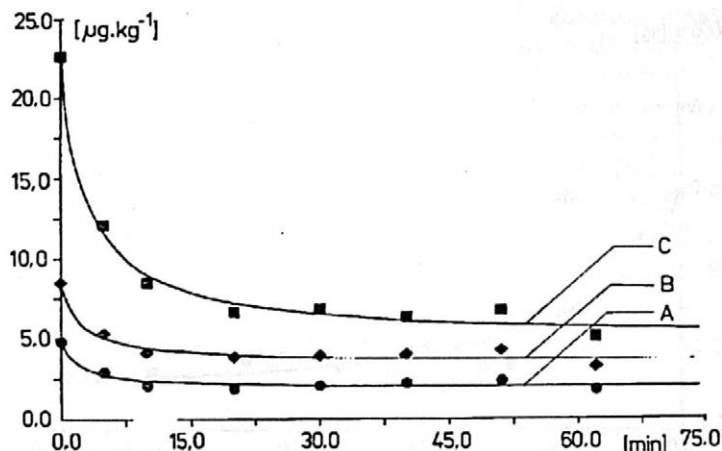
Doba ohrevu <sup>1</sup> [min]	Sušina <sup>2</sup> [%]	Tuk <sup>3</sup> [%]	Obsah BaP <sup>4</sup> [ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]		
			A	B	C
0	56,7	35,3	4,80	8,46	22,64
5	56,5	31,9	3,00	5,29	12,07
10	52,2	26,7	2,16	4,14	8,47
20	49,6	20,8	1,91	3,85	6,63
30	52,8	22,4	2,09	3,95	6,86
40	56,4	20,3	2,29	4,06	6,34
51	57,4	21,1	2,47	4,30	6,79
62	56,6	20,2	1,87	3,30	5,13

A = prepočítaný na kg vzorky — recalculated per kg of the sample

B = prepočítaný na kg sušiny — recalculated per kg of the dry matter

C = prepočítaný na kg beztukovej sušiny — recalculated per kg of non-fat dry matter

<sup>1</sup>time of heating; <sup>2</sup>dry matter; <sup>3</sup>fat; <sup>4</sup>BaP content



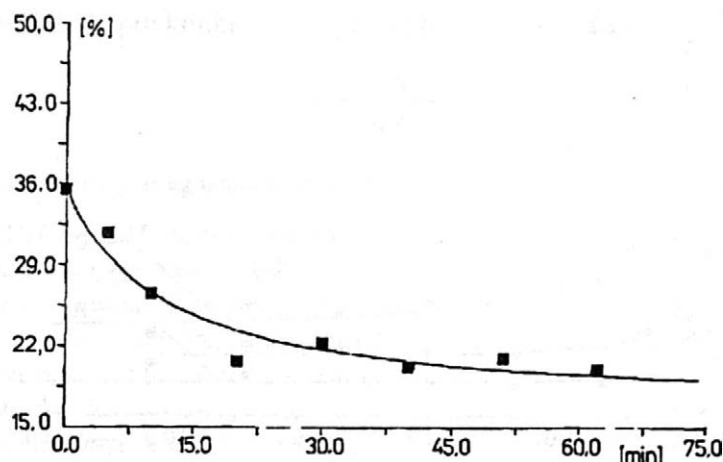
1. Závislosť obsahu benzo(a)pyrénu (BaP) [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] vo vzorke Domácia klobása na dobu ohrevu [min] (krivka A), prepočítaného na sušinu (krivka B) a prepočítaného na beztukovú sušinu (krivka C) — Dependence of benzo(a)pyrene (BaP) content [ $\text{mg}/\text{kg}$ ] on the time of heating [min] in the sample "Domestic Sausage" (curve A), recalculated to dry matter on the time of heating (curve B) and recalculated to non-fat dry matter (curve C)

Vzhľadom na meniaci sa obsah tuku vo výrobku počas experimentu, ale aj nerovnaký obsah tuku v jednotlivých kusoch výrobku vyplývajúci z nehomogénnej podstaty výrobku, najobjektívnejší pohľad na zmeny obsahu BaP počas ohrevu je možné získať po prepočítaní obsahu BaP na beztukovú sušinu. Tento priebeh zmien je znázornený na obr. 1 krivkou C, a hodnota korelačného koeficienta ( $KK_C = 0,99524$ ) potvrdzuje ďalšie zlepšenie korelácie sledovaných parametrov.

II. Stanovenie benzo(a)pyrénu (BaP) v Domácej klobáse, jej jednotlivých častiach na začiatku experimentu a vo vytavenom tuku — Benzo(a)pyrene (BaP) determination in the product "Domestic Sausage" and in its particular parts in the beginning of the experiment and in the melted fat

Analyzovaná časť <sup>1</sup>	Obsah BaP <sup>6</sup> [ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]	Reálne zastúpenie BaP <sup>7</sup>	
		[ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]	[%]
Domácia klobása ako celok <sup>2</sup>	4,80		
Olúpaná klobása <sup>3</sup>	3,78	3,67	78,4
Obal <sup>4</sup>	86,0	1,02	21,3
Vytavený tuk <sup>5</sup>	7,71		

<sup>1</sup> analysed part; <sup>2</sup> domestic sausage as a whole; <sup>3</sup> skinned sausage; <sup>4</sup> packing; <sup>5</sup> melted fat; <sup>6</sup> BaP content; <sup>7</sup> real representation BaP



2. Závislosť obsahu tuku [%] na dobe ohrevu [min] vo vzorke Domacia klobása — Dependence of fat content [%] on the time [min] of heating in the sample "Domestic Sausage"

Na základe podobnosti zmien obsahu BaP a tuku počas ohrevu vzorky Domacia klobása, by lineárna závislosť mohla dostatočne vystihovať závislosť zmien obsahu BaP od stupňa vytavenia tuku, ako to vyplýva z grafického znázornenia na obr. 3 ( $KK = 0,86616$ ).

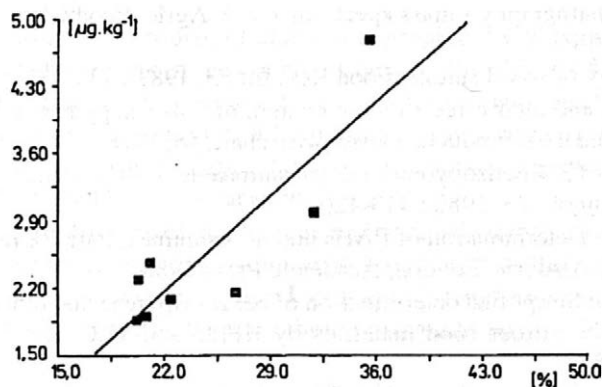
**Vzorka Jemné párky:** Keďže bolo v prípade vzorky Domacia klobása zistené, že po uplynutí približne 15 minút ohrevu sa stávajú sledované hodnoty konštantnými, bola vzorka ohrievaná vo vriacej vode 16 minút a získané výsledky sa nachádzajú v tab. III.

III. Stanovenie tuku, sušiny a benzo(a)pyrénu (BaP) vo vzorke Jemné párky — The determination of fat, dry matter and benzo(a)pyrene (BaP) in the sample "Delicate Sausage"

Doba ohrevu <sup>1</sup> [min]	Sušina <sup>2</sup> [%]	Tuk <sup>3</sup> [%]	Obsah BaP <sup>4</sup> [ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]
0	38,0	18,9	1,38
8	36,9	18,3	1,38
16	37,0	18,5	1,35

<sup>1</sup>time of heating; <sup>2</sup>dry matter, <sup>3</sup>fat; <sup>4</sup>BaP content

Ako vyplýva z nameraných hodnôt, sledované parametre zostali prakticky nezmenené. Táto skutočnosť je v ostrom kontraste s výsledkami získanými analýzou vzorky Domacia klobása, avšak nasledujúce vysvetlenie by mohlo byť postulované: hoci sú si oba skúmané mäsové výrobky opticky podobné, veľký rozdiel je v technologickom procese ich výroby. Zatiaľ čo Domacia klobása je



3. Závislosť obsahu benzo(a)pyrénu (BaP) [µg/kg] na obsahu tuku [%] vo vzorke Domáca klobása — Dependence of benzo(a)pyrene (BaP) content [µg/kg] on the fat content [%] in the sample "Domestic Sausage"

distribúovaná do obchodnej siete okamžite po skončení procesu údenia, Jemné párky vo všeobecnosti sú ešte po skončení údenia varené vo vodnej pare. Táto posledná operácia spôsobuje vytavovanie časti tuku z výrobku, pričom sa celý systém z hľadiska obsahu vody, tuku a bielkovín stabilizuje. Keďže všetok „nadbytočný“ tuk sa už uvoľnil z Jemných párok počas varenia v procese ich výroby, nedochádzalo prakticky k jeho výraznejším zmenám počas ďalších procesov ohrevu. Pokiaľ teda výrobok Domáca klobása predstavuje viac-menej nehomogénnu zmes mäsa a tukového tkaniva, Jemné párky predstavujú stabilizovanú disperznú sústavu, v ktorej „reziduálny“ tuk je v rovnováhe s ostatnými zložkami. Pretože bolo potvrdené, že úbytok BaP z udených mäsových výrobkov počas ohrevu je v úzkej korelácii s úbytkom tuku, nedochádzalo potom ani k zmenám v obsahu BaP a jeho hodnota zostala prakticky na konštantnej úrovni počas celej doby trvania experimentu.

### Literatúra

- ANDELMAN, J. B. - SUESS, M.: PAH in the water environment. Bull. WHO, 43, 1970 : 479-508.
- FRETHEIM, K.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meat products. Food Chem., 10, 1983 : 129 - 139.
- GERTZ, Ch.: Improved method for quantitative isolation of benzo(a)pyrene from foods. Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 173, 1981 : 208-212.
- HOWARD, J. W. - FAZIO, T.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 63, 1980 : 1077-1104.
- KRUIJF, N. - SCHOUTEN, T. - STEGEN, G. H. D.: Rapid determination of benzo(a)pyrene in roasted coffee and coffee brew by HPLC with fluorescence detection. J. Agric. Food Chem., 35, 1987 : 545-549.
- LAWRENCE, J. F. - WEBER, D. F.: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in some Canadian commercial fish, shellfish and meat products by liquid chromatography with

confirmation by capillary gas chromatography - mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 32, 1984 : 789-794.

MAGA, J. A. : The flavor chemistry of wood smoke. *Food Rev. Int.*, 3, 1987 : 139-183.

POTTHAST, K. Smoking methods and their effects on the content of 3,4-benzopyrene and other constituents of smoke in smoked meat products. *Fleischwirtschaft*, 58, 1978 : 371-375.

SILVESTER, D. S.: Determination of 3,4-benzopyrene and benzantracene (PAH) in phenolic smoke concentrates. *J. Food Technol.*, 15, 1980 : 413-420.

STAHL, W. - EISENBRANDT, G.: Determination of PAHs and nitrosamines: Part 10. In: MACRAE, R. (Ed.): *HPLC in Food Analysis*. London, Academic Press 1988.

STIJVE, T. - HISCHENHUBER, C.: Simplified determination of benzo(a)pyrene and other polycyclic aromatic hydrocarbons in various food materials by HPLC and TLC. *Dtsch. Lebensm.-Rdsch.*, 83, 1987 : 276-282.

ŠIMKO, P.: Changes of benzo(a)pyrene content in smoked fish during storage. *Food Chem.*, 40, 1991 : 293-300.

ŠIMKO, P. - GOMBITA, M. - KAROVIČOVÁ, J.: Determination and occurrence of benzo(a)pyrene in smoked meat products. *Nahrung*, 35, 1991a : 103-104.

ŠIMKO, P. - DUBRAVICKÝ, J. - DRDÁK, M. - KAROVIČOVÁ, J.: Changes of benzo(a)pyrene contents in smoked meat products. In: *Proc. Euro Food Chem VI, Lebensmittel Chemische Gesellsch., Frankfurt a. M., 1991b : 752-757.*

ŠIMKO, P. - PETRÍK, J. - KAROVIČOVÁ, J.: Determination of benzo(a)pyrene in the liquid smoke preparations UTP-1 by HPLC and confirmation by GC-MS. *Acta Aliment.*, 21, 1992 : 107-114.

TÓTH, L. - BLAAS, W.: Einfluss der Räuchertechnologie auf den Gehalt von geräuchertern Fleischwaren an kancerogenen Kohlenwasserstoffen II. *Fleischwirtschaft*, 52, 1972 : 1419-1424.

TÓTH, L.: *Chemie der Räucherung*. Berlin, Verlag Chemie 1983.

Došlo dňa 27. 1. 1992

*P. Šimko, J. Knežo (Faculty of Chemical Technology  
of the Slovak Technical University, Bratislava, Slovak Republic)*

### **The effect of heating on the benzo(a)pyrene content in the smoked meat products**

In the experiment the effect of heating on the benzo(a)pyrene (BaP) content in two technologically different smoked meat products was observed. Both products were after buying in the commercial network heated in the boiling water and in certain time intervals the samples were gradually taken, in which fat, BaP and dry matter contents were determined. Dry matter was determined by drying to the constant loss at 105 °C, fat by extraction on the Twisselman device and BaP after saponification of the sample by methanolic KOH solution, extraction by hexane, separation of lipoproteins by means of the Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> solution and after purification on Florisil by the HPLC method with utilization of selective fluorimetric detection.

As it follows from Table I, in the case of the sample "Domestic Sausage" there was a maximum decrease in the BaP content approximately in the first 15 minutes of

heating. This course of changes is graphically illustrated in Fig. 1 by the curve A ( $KK_A = 0.96467$ ). As in the course of heating the ability of proteins to bind water varies as a result of protein denaturing, this factor was eliminated by recalculation of BaP content to dry matter, which caused improvement in the value of correlation coefficient ( $KK_B = 0.98056$ ), calculated by means of the equation [2]. This course is graphically illustrated by the B curve in Fig. 1.

The amount of melted fat had a considerable effect on BaP loss from the sample "Domestic Sausage" sample is possible to get after recalculation of BaP content to non-fat dry matter (Table I, column C, graphically illustrated in Fig. 1 by the C curve,  $KK_C = 0.99624$ ), because the fat proved to be an effective BaP remover in that certain case.

This statement is documented also by the results in Table II, when BaP content in the value of  $7.71 \mu\text{g}$  per kg was found out in the melted fat after finishing the experiment, while BaP content in the course of experiment decreased from the initial value of  $4.80 \mu\text{g}$  per kg to  $1.87 \mu\text{g}$  per kg after finishing the process of heating.

On the contrary, no effect of heating on the second analysed sample - "Delicate Sausage" was recorded, when the values of BaP ( $1.36 \mu\text{g}$  per kg), fat and dry matter contents were practically on the constant level (Table III). This was caused by the fact that both products are similar only optically. While the products "Domestic Sausage" represents non-homogeneous mixture of the ground meat and fat fibre and it is distributed into the commercial network after finishing the process of smoking, the product "Delicate Sausage" represents substantially a fine processed product (emulsion system), that is moreover stabilized by boiling in the steam after finishing the process of smoking.

In the course of boiling the "excessive" fat is released, by which the whole system is stabilized as for the contents of fat, protein and water. As a "residual" fat is in equilibrium with the other components of the system there is no loss of it during the other processes of heating these types of products.

As the BaP diffusion into the non-polar fat particles of the smoked products and correlation between BaP and fat losses were proved, the constant BaP content in the sample "Delicate Sausage" was caused by fat content in the sample, which does not vary during the process of heating.

smoked meat products; HPLC method; benzo(a)pyrene; fat

**AD** *eko*  
A.S.

**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**



## SPÔSOB STABILITY ANTOKYANÍNŮVÝCH FARBÍV A ELIMINÁCIA NEŽIADÚCICH SENZORICKY AKTÍVNYCH ZLOŽIEK BAZY CHABZDOVEJ

Mária KOVÁČOVÁ, Alexander PRÍBELA, Ivana KOZÁROVÁ

Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

Vhodným nosičom antokyanínových farbív je kavernovaný kukuričný škrob. Najvyššia výťažnosť desorpcie (94,92 %) sa dosiahne pri použití šťavy enzymaticky ošetrenej s enzýmom celulóza a okyslenej s  $H_3PO_4$  na pH = 2,0. Počas skladovania vykazuje najvyššiu stabilitu preparát pripravený z enzymaticky ošetrenej a okyslenej šťavy bazy chabzdovej, ktorý je vákuovo balený v PE + PP fólii. Desorbované šťavy majú vyššiu prahovú koncentráciu horkých látok a sú bez myšínového zápachu, ktorý je typický pre bazu chabzdovú.

baza chabzdová; antokyaníny; celulóza; kavernovaný kukuričný škrob; prahová koncentrácia

Baza chabzdová (*Sambucus ebulus* L.) je perspektívnym zdrojom antokyanínových farbív. Množstvom 3,5 až 5,2 g/kg (Príbel a et al., 1989) patrí medzi plodiny s najvyšším obsahom antokyanínov. Pre praktické využitie bazy chabzdovej je však potrebné odstrániť nepríjemnú horkú chuť, myšínový zápach a vhodnou formou stabilizovať antokyaníny.

Doteraz sa farbiace preparáty z farebného ovocia s obsahom antokyanínových farbív buď chemicky konzervovali a skladovali ako polotovary, alebo sa zahustili a uchovali ako koncentráty. Stabilita antokyanínových farbív v takto uchovávaných polovýrobkoch je veľmi malá. Viaceré práce čiastočne riešia stabilitu antokyanínov skladovaním preparátov pri 0 - 4 °C (Malík et al., 1987; Drdák, Naščáková, 1984; Drdák et al., 1984, 1989). Jedným zo spôsobov stabilizácie antokyanínov je ich reakcia s tanínom. Stabilizácia sa tu vysvetľuje vznikom molekulových pigmentov, ktoré sú stálejšie ako izolované antokyaníny voči chemickej, fotochemickej a enzymatickej degradácii (Maccarone et al., 1987; Sims, Morris, 1985).

V poslednom období sa kladie čoraz väčší dôraz na výrobu práškových prípravkov s obsahom farebných, chuťových a aromatických látok (Príbel a et al., 1990; Sejtli et al., 1986; Bronum-Hansen et al., 1985). Ako uvádza Dexbury (1990), vhodným nosičom prírodnej arómy môže byť napr. pšeničná múka. Náhradná zmes za cibufu a cesnak obsahuje všetky prírodné zložky

vrátane olejov, emulzií a prírodných aromatických látok. Výhodou použitia je tiež podstatné zníženie počtu baktérií a kvasiniek v hotových výrobkoch.

S z e j t l i et al. (1986) využívali na stabilizáciu chuťových a aromatických látok do potravinárskych a kozmetických prípravkov  $\beta$ -cyklodextríny (obsahujú sedem glukopyranózových jednotiek). Stabilizačný účinok cyklodextrínov sa vysvetľuje vznikom inklúzných komplexov. V  $\beta$ -cyklodextrínových komplexoch je aktívna zložka (aróma, chuť) chránená voči oxidácii, tepelnému rozkladu a strate vyparovaním a sublimáciou. Súčasne sa eliminuje alebo redukuje nežiadúca chuť (zápach) a mikrobiálna kontaminácia.

Hľadali sme vhodný spôsob na dosiahnutie stability antokyanínových farbív. Farbivá sme adsorbovali na tuhý práškový nosič, pričom sme preskúšali tri druhy u nás dostupných škrobov: oxidovaný škrob Oxamyl 1211 A (Škrobárny, o.p., Havlíčkův Brod, Červená Řečice), zemiakový škrob Solamyl (Slovenské škrobárne, n. p., Trnava, závod Boleráz) a kavernovaný kukuričný škrob vyrobený na CHTF STU podľa PV 8027-87 (S m e l í k, 1987). Sledovali sme adsorpčnú kapacitu, spätnú desorpciu farbív a stabilitu farbív počas skladovania pripravených preparátov.

## MATERIÁL a METÓDY

**Zdroj antokyanínov:** Šťavy s obsahom antokyanínov sme izolovali z plodov bazy chabzdovej. Sledovali sme vplyv úpravy šťavy pred nanášaním na škrobový nosič na spätné získanie antokyanínov. Použili sme tri druhy štiav: enzymaticky ošetrovanú s enzýmom celulóza (0,5 g na 1 kg drviny s pH = 5,1), ďalej rovnakú enzymaticky ošetrovanú šťavu okyslenú s  $H_3PO_4$  na pH = 2,0 a čerstvo vylisovanú šťavu (pH = 5,3).

**Použitý enzým:** Priemyselný enzymatický preparát celulóza, aktivita  $C_x = 10\ 000$  mg RL na 1 g, optimálne pH = 5,5, optimálna teplota 40 - 55 °C (výrobca ZD Kestřany, Bioprovoz Kolín). Zloženie preparátu: xylanáza,  $\beta$ -glukozidáza, celobiáza, pektinázy,  $\alpha$ -amyláza,  $\beta$ -amyláza, amyloglukozidáza, alkalická proteáza.

**Kavernovaný kukuričný škrob:** Špeciálnou úpravou podľa PV 8027-87 (S m e l í k, 1987) je vo vnútri škrobových zrn vytvorená tzv. kaverna.

**Výťažnosť desorpcie antokyanínov z kavernovaného škrobu:** Množstvo preparátu antokyanínových farbív zodpovedajúce 0,5 ml šťavy bazy chabzdovej sme viacnásobne extrahovali s HCl ( $c = 0,1$  mol/l) pri 25 - 30 °C do úplnej desorpcie farbív. Filtráty sme prefiltrovali cez fritu S4 do 100ml odmernej banky, pH sme upravili so zriedenou HCl na hodnotu 1,0 (Radiometer TTT 1 Copenhagen, Dánsko) a doplnili po značku HCl ( $c = 0,1$  mol/l). Absorbanciu filtrátu sme merali v absorpčnom maxime na prístroji Spekol (Carl Zeiss Jena, NDR). Obsah antokyanínov sme vypočítali podľa Fulekiho a Francisa (F u l e k i, F r a n c i s, 1968).

**Príprava práškového preparátu antokyanínov:** V Petriho miske s priemerom 18 cm sme dôkladne premiešali kavernový škrob s príslušnou šťavou bazy chabzdo-

vej. Preparát sme sušili vo vákuovej sušiarňi pri teplote 35°C a tlaku 0,02 MPa. Celkový proces sušenia pri trojstupňovej adsorpcii a pomere šťava : škrob = 1,0 : 2,7 trval 55 hodín. Vysušený koncentrát farbív sme zabalili buď voľne do papierových vrecúšok, alebo za vákua do kombinovaných fólií polyetylénu a polypropylénu a hermeticky uzatvorili zatavením.

**Senzorická analýza:** Za prah citlivosti sme určili vzorku s najnižšie postrehnuteľnou koncentráciou horkej látky. Na štatistické určenie prahovej koncentrácie sme použili metódu založenú na princípe normálneho rozdelenia (E c k s c h l a g e r et al., 1980). Pri zisťovaní rozdielov akosti párovým testom sme postupovali podľa literatúry (P r í b e l a, 1987).

## VÝSLEDKY a DISKUSIA

### Výtťažnosť desorpcie antokyanínov

Straty antokyanínov vplyvom adsorpcie na nosič a desorpcie z nosiča (kavernovaného kukuričného škrobu) sme sledovali v troch rôzne upravených šťavách bazy chabzdovej (tab. I).

#### I. Výtťažnosť desorpcie antokyanínov - The yield of desorption of anthocyanins

Vzorka <sup>1</sup>	A <sup>1</sup> pH 1,0	A <sup>2</sup> pH 1,0	c <sup>1</sup> <sub>ACY</sub>	c <sub>2</sub> <sub>ACY</sub>	Výtťažnosť desorpcie <sup>2</sup> [%]
			[mg. kg <sup>-1</sup> ]		
ČŠ	0,226	0,0695	3942,27	2424,67	61,50
EŠ	0,197	0,0935	3445,12	2651,44	76,96
EŠ + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	0,197	0,0935	3436,40	3261,97	94,92

ČŠ = čerstvá šťava (bez úprav) – fresh juice (without any treatment)

EŠ = enzýmová šťava – enzyme juice

EŠ + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> = okyselená enzýmová šťava – acidified enzyme juice

A<sup>1</sup>, pH 1,0 = priemerná absorbanca roztoku (1 ml šťavy na 100 ml) v 1mm kyvete v absolutnom maxime pred adsorpciou – average absorbance of solution (1 ml of juice per 100 ml) in 1mm cell in absolute maximum before adsorption

A<sup>2</sup>, pH 1,0 = priemerná absorbanca roztoku (0,5 ml šťavy na 100 ml) v 1mm kyvete v absolutnom maxime po desorpcii – average absorbance of solution (0.5 ml per 100 ml) in 1mm cell in absolute maximum after desorption

c<sup>1</sup><sub>ACY</sub> = celkový obsah antokynínov vyjadrený ako kyanidín-3-glukozid pred adsorpciou – total contents of anthocyanins expressed as cyanidin-3-glucoside before adsorption

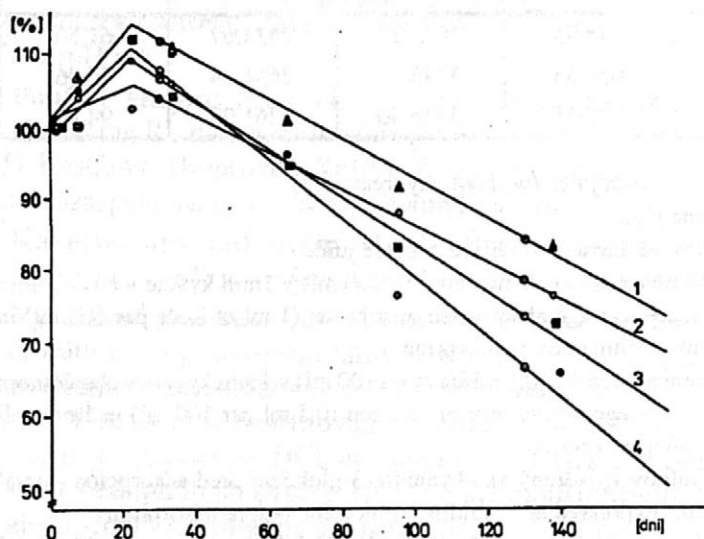
c<sup>2</sup><sub>ACY</sub> = celkový obsah antokynínov vyjadrený ako kyanidín-3-glukozid po desorpcii – total contents of anthocyanins expressed as cyanidin-3-glucoside after desorption

<sup>1</sup>sample; <sup>2</sup>yield of desorption

Kým výťažnosť desorpcie čerstvej šťavy je iba 61,5 % a enzýmovej šťavy 76,96 %, z enzýmovej okyslenej šťavy sa späť získava až 94,92 % adsorbovaných antokyanínov. Enzýmová šťava a okyslená enzýmová šťava sa líšia tiež polohou absorpčného maxima (max. desorb. = 521,9 nm, max. desorb. okyslená = 519,8 nm). Ľahšiu desorpciu enzymaticky opracovaných štiav v porovnaní s čerstvou šťavou je možné vysvetliť vznikom nestálejších aglykónov - antokyanidínov, ktoré vznikajú rozštiepením glykozidovej väzby antokyanínov účinkom enzýmov.

### Stabilita antokyanínových farbív počas skladovania

Údaje o stabilite práškových preparátov počas skladovania pri laboratórnej teplote sú graficky znázornené na obr. 1, z ktorého vyplýva, že najmenšie straty farbív po 138 dňoch skladovania sú v preparátoch, ktoré sú pripravené z enzýmovej okyslenej šťavy a uskladnené za vákua vo fólii z polyetylénu v zmesi s polypropylénom. Odstránením kyslíka z obalu sa zamedzilo stratám antokyanínov oxidačnými procesmi. Rozdiely v percentuálnych úbytkoch antokyanínov medzi vzorkami v papierových sáčkoch a v PE + PP fólii sa zväčšujú s predlžovaním doby skladovania. Za 138 dní je obsah farbív v preparátoch z okyslenej šťavy v papierových vreckách 72 %, kým vákuovo balené preparáty vykazujú 83% obsah farbív z pôvodnej hodnoty. Účinkom vákua sa teda dosiahlo zníženie strát skladovaním o 11%. Stabilita práškových preparátov stúpa v poradí: papierové vrecká - neokyslená šťava, papierové vrecká - okyslená šťava, vákuové balenie - neokyslená šťava, vákuové balenie - okyslená šťava.



- 1 = vákuové balenie, okyslená – vacuum packing, acidified
- 2 = vákuové balenie, neokyslená – vacuum packing, non-acidified
- 3 = papierové vrecká, okyslená – paper bags, acidified
- 4 = papierové vrecká, neokyslená – paper bags, non-acidified

1. Zmeny antokyanínov počas skladovania práškových preparátov – Changes in anthocyanins during storing of powdery preparations

Zvýšenie stability antokyanínov na škrobovom nosiči sme dosiahli okyslením adsorbovanej šťavy a ich prevedením na stabilnejšiu formu flavýliového kationu, ako aj odstránením kyslíka z obalu.

Zaujímavým faktom zostáva, že v intervale 0 až 23 dní skladovania preparátov sa absorbancia desorbovaných zvyšuje o 0 až 10 %. Môže to byť spôsobené vznikom komplexov alebo kondenzačných produktov na povrchu škrobového nosiča. Pokles množstva desorbovaných farbív v intervale 22 až 138 dní skladovania má vo všetkých štyroch typoch preparátov lineárny priebeh. Regresnou analýzou sme vypočítali nasledovné rovnice priamok:

- |   |                                      |
|---|--------------------------------------|
| 1. šťava okyslená - vákuové balenie:    | $y = -0,2603x + 117,95; r = -0,9952$ |
| 2. šťava okyslená - papierové vrecká:   | $y = -0,3332x + 116,81; r = -0,9928$ |
| 3. šťava neokyslená - vákuové balenie:  | $y = -0,2496x + 111,39; r = -0,9798$ |
| 4. šťava neokyslená - papierové vrecká: | $y = -0,4124x + 120,16; r = -0,9846$ |

kde:  $x$  - dni skladovania

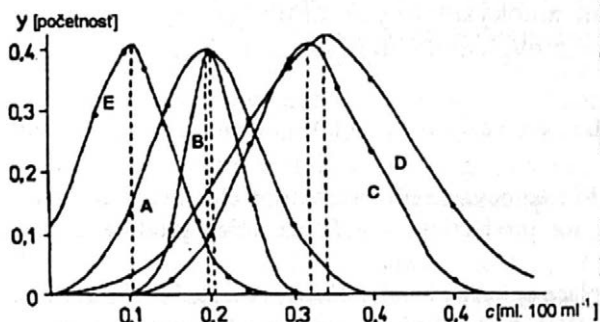
$y$  - % získaných antokyanínov

$r$  - koeficient korelácie

Pripravený práškový preparát antokyanínových farbív sme použili na výrobu čírych limonád. Z 1 kg bazy chabzdovej sme získali farbivo na 130 až 150 l nealkoholického nápoja (podľa požadovanej farebnej intenzity). Na 1000 l nápoja je treba 2,0 - 2,7 kg farbiaceho práškového preparátu.

### Senzorická aktivita štiav bazy chabzdovej

V grafe na obr. 2, ktorý je vyjadrením závislosti početnosti  $y$  od koncentrácie horkej látky  $x$ , sú zaznamenané priemerné prahové koncentrácie posudzovaných štiav. Pre porovnanie sme použili modelový roztok chinínu v koncentračnom rozsahu 0,061 až 0,244 mg na 100 ml.



- A = čerstvá šťava – fresh juice  
 B = enzýmová šťava – enzyme juice  
 C = desorbovaná enzýmová šťava okyslená – desorbed enzyme juice acidified  
 D = desorbovaná enzýmová šťava neokyslená – desorbed enzyme juice, non-acidified  
 E = chinín – quinone  
 početnosť – abundance

2. Štatistické spracovanie výsledkov určovania horkej chuti chinínu a štiav bazy chabzdovej – Statistical processing of the results of determination of bitter taste of quinone and juices of danewort

Podľa hodnôt prahových koncentrácií možno konštatovať, že aplikácia zvoleného enzýmu nespôsobuje odbúranie prítomných horkých látok. Horká chuť sa však čiastočne eliminuje adsorpciou štiav na kavernovaný škrob, čo sa prejavilo na zvýšení hodnôt prahových koncentrácií obidvoch desorbovaných štiav. Kým prahová koncentrácia enzýmovej šťavy pred adsorpciou je 0,204 ml na 100 ml redestilovanej vody, u desorbovanej enzýmovej šťavy okyslenej je 0,323 ml na 100 ml redestilovanej vody a u desorbovanej enzýmovej šťavy neokyslenej 0,343 ml na 100 ml redestilovanej vody.

Párovým testom sme zisťovali rozdiely jedného akostného ukazovateľa - horkej chuti v nasledovných typoch štiav: 1. enzýmová šťava, 2. desorbovaná enzýmová šťava okyslená, 3. desorbovaná enzýmová šťava neokyslená.

Štandardnou šťavou bola vždy čerstvá šťava. Výsledky párového testu sme vyhodnotili podľa literatúry (P r í b e l a, 1980). Z počtu správnych odpovedí (40 u šťavy č. 2 a 30 u šťavy č. 3) je možné konštatovať, že šťavy získané desorpciou z kavernovaného škrobu sú do značnej miery zbavené prítomných horkých látok a tiež myštinových pachutí. Predovšetkým okyslená enzýmová desorbovaná šťava sa vyznačuje pekným farebným odtieňom, príjemnou ovocnou chuťou a vôňou.

Záverom možno na základe dosiahnutých výsledkov konštatovať, že stupeň desorpcie farbív z kavernovaného škrobu, ako aj stabilita antokyanínových farbív počas skladovania, závisia od spôsobu úpravy šťavy pred nanášaním na škrobový nosič. Pri použití optimálnej šťavy (enzymaticky opracovaná, okyslená) si pripravený práškový preparát antokyanínových farbív zachováva dostatočne stabilnú farbu počas dlhodobého skladovania pri laboratórnej teplote. Stabilita antokyanínov je zabezpečená ich adsorpciou na nosiči v suchom stave a odstránením kyslíka z obalu.

Prahová koncentrácia horkých látok desorbovaných štiav je vyššia v porovnaní s prahovou koncentráciou štiav pred adsorpciou na škrobový nosič. Mení sa tiež aróma desorbovaných štiav - stráca sa myštinový zápach.

Práškový preparát antokyanínových farbív možno použiť priamo na prípravu nápojov, želé cukríkov a iných výrobkov. Na číre nápoje sa farbivo desorbuje kyselinou citrónovou. Preparátom antokyanínových farbív je možné nahradiť červené syntetické farbivá, ktoré sú z hygienického hľadiska nežiadúce.

## Literatúra

- BRONUM-HANSEN, K. - FLINK, J. M.: Antocyanin colourants from elderberry (*Sambucus nigra* L.). II. Process considerations for production of a freeze dried product. *J. Food Technol.*, 20, 1985 : 713-723.
- DEXBURY, D.D.: Mixtures which replace onion and garlic. *Food Process*, 51, 1990 : 82-83.
- DRDÁK, M. - MALÍK, F. - ŠILHÁROVÁ A.: Spôsob prípravy farbiaceho preparátu z plodov bazy čiernej. 1. 12. 1984. Pat. ČSFR 225 530.
- DRDÁK, M. - MALÍK, F. - HLAVÁČ, J.: Spôsob výroby farbiaceho preparátu z plodov čiernych ríbezlí. 15. 3. 1989. Pat. ČSFR 259 226.

- DRDÁK, M. - NAŠČÁKOVÁ, M.: Spôsob prípravy farbiaceho preparátu z červenej repy. 1. 12. 1984. Pat. ČSFR 225 529.
- ECKSCHLAGER, K. - HORSÁK, I. - KODEJŠ, Z.: Vyhodnocování analytických výsledků a metod. Praha, SNTL 1980 : 223 s.
- FULEKI, T. - FRANCIS, F. J.: Quantitative methods for anthocyanins. 2. Determinations of total anthocyanins and degradations index for grandberry juice. J. Food Sci., 33, 1968 : 78-83.
- MACCARONE, E. - MACCARONE, A. - RAPISARDA P.: Colour stabilization of orange fruit by tannic acid. Int. J. Food Sci. Technol., 22, 1987 : 159-162.
- MALÍK, F. - DRDÁK, M. - HRONČEK, J. - HLAVÁČ, J.: Spôsob prípravy farbiaceho preparátu z modrých kultivarov hrozna. 15. 12. 1987. Pat. ČSFR 246 449.
- PRÍBELA, A.: Analýza potravín. [Cvičenie.] Bratislava, ES SVŠT 1987 : 394 s.
- PRÍBELA, A. - IVANIČOVÁ, M. - DANIŠOVÁ, C.: Základné chemické zloženie plodov bazy chabzdovej a čiernej. Potravn. Vědy, 7, 1989 : 145-152.
- PRÍBELA, A. - KOVÁČOVÁ, M. - SMELÍK, A.: Spôsob prípravy farbiaceho práškového preparátu. 11. 10. 1990. PV ČSFR 4933-90.
- SIMS, C. A. - MORIS, J. R.: A comparison of the colour components and colour stability of red wine from Noble and Cabernet Sauvignon at various pH levels. Amer. J. Enol. Vitic. 36, 1985 : 181-184.
- SMELÍK, A.: Spôsob úpravy kukuričného škrobu. 9. 11. 1987. PV ČSFR 8027-87.
- SZEJTLI, J. - KOLTA, R. - ZILAHY, T.: Spôsob výroby  $\beta$  cykloextrínových inklúzných komplexov prirodzených aróm a korenia. 15. 3. 1986. Pat. MLR 226 176.

Došlo dňa 3. 4. 1992

*M. Kováčová, A. Príbelá, I. Kozárová (Chemical and Technological Faculty of the Slovak Technical University, Bratislava, Slovak Republic)*

### **The way of stability of anthocyanin colorants and elimination of undesired sensorically active components of danewort**

For the practical use of danewort (*Sambucus ebulus* L.) containing anthocyanin colorants 3.5 - 5.2 g/kg, it is necessary to remove unpleasant bitter taste, mousy smell and to stabilize anthocyanins in a suitable form. One of the ways how to stabilize anthocyanins is their adsorption into carnevous maize starch. Both the yield of desorption and the stability of colorants on the starch carrier are dependent on the way of finishing the juice used for the preparation of the powder of anthocyanin colorants. (Table I). The highest yield of desorption (94.9 %) was attained when using the juice enzymatically treated with the enzyme cellulase (0.5 g/kg of squash) and acidified with  $H_3PO_4$  to pH = 2.0. The yield of desorption of the fresh juice (pH = 5.3) is 61.5 % and of the enzyme non-acidified juice (pH = 5.1) is 77 %.

The lowest losses of colorants after 138 days of storing of powder preparation of anthocyanin colorants were found in the preparations prepared from enzyme acidified juice and stored under the vacuum in the plastic foil of polyethylene in the mixture with polypropylene. The stability of the powder preparations rises in the sequence: paper bags - non-acidified juice, vacuum packing - non-acidified juice, paper bags - acidified juice, vacuum packing - non-acidified juice and vacuum packing - acidified juice. The decrease

in the amount of desorbed colorants in the interval 22 - 138 days of storing is of linear pattern for each of four preparations (Fig. 1). For 138 days the contents of colorants in the preparations from acidified juice in paper bags is 72 %, while vacuum-packed preparations exhibit 83 % contents of the former, original value. By acting the vacuum the losses were reduced by storing by 11 %.

A powder preparation of anthocyanin colorants was used for the preparation of clear lemonades in the amount of 2.0 to 2.7 kg per 1,000 litres of the beverage.

It follows from the values of threshold concentrations of bitter taste of assessed juices (Fig. 2) that the threshold concentration of bitter substances of desorbed juices is higher in comparison with the threshold concentration of juices before adsorption to starch carrier (0.204 ml per 100 ml of redistilled water before adsorption, or 0.323 ml per 100 ml of redistilled water after desorption). Desorbed juices losted also their mousy smell.

The paired test (on the 5% level of significance) helped to find that the juices obtained by desorption from cavernous starch are cleared of bitter tastes in a high degree. The preparation of anthocyanin colorants can be used as a substitute for the synthetic red colorants.

danewort; anthocyanins; cellulose; cavernous maize starch; treshold concentration

## ZMENY MASTNÝCH KYSELÍN LIPIDOV VZORIEK PRI KOMBINOVAanej METÓDE KONZERVÁCIE POTRAVÍN S APLIKÁCIou GLYCÍNu

Mária TAKÁCSOVÁ, Bernadette HOZOVÁ, Alica RAJNIAKOVÁ,  
Iveta MINAROVÍČOVÁ

*Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava*

---

Pomocou plynovej chromatografie sme sledovali zmeny v zastúpení mastných kyselín lipidov vzoriek Domáci hovädzí guláš, konzervovaných kombináciou pasterizácie pri teplote 98 °C počas 20 minút s prídavkom aminokyseliny glycínu v priebehu 20týždňového skladovania. Prídavok glycínu do jednotlivých vzoriek sme aplikovali pomocou metódy plánovaného experimentu. Kvantitatívne zmeny mastných kyselín lipidov týchto vzoriek sme porovnávali so zmenami kontrolných vzoriek, ktorými boli vzorky bez prídavku aminokyseliny - pasterizované, mrazené a sterilizované. Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že vplyvom kombinovanej metódy konzervácie potravín nedochádza k výrazným zmenám v zastúpení nasýtených a nenasýtených mastných kyselín. Množstvo esenciálnych mastných kyselín je podmienené prídavkom aminokyseliny glycínu. K najnižšiemu úbytku týchto kyselín po 20týždňovom skladovaní dochádza vo vzorkách konzervovaných kombinovanou metódou s 3,00 a 2,57% prídavkom glycínu.

hovädzie mäso; kombinovaná metóda konzervácie; pasterizácia; glycín; mastné kyseliny

---

Kombinované metódy konzervácie potravín nachádzajú uplatnenie v praxi za predpokladu, že ich vhodným výberom dochádza k lepšiemu uchovaniu výživovej a senzorickej hodnoty ako využitím samostatne aplikovaných konzervačných metód.

Určitá pozornosť sa venuje výberu a výskumu zložiek potravín, ktorých antimikrobiálny a antioxidantný účinok by sa mohol v kombinácii s klasickou konzervačnou metódou uplatniť v praxi. K takýmto látkam patrí aj aminokyselina glycín, ktorá vykazuje antimikrobiálne účinky a podľa výsledkov prác niektorých autorov aj antioxidantné účinky (S h a h i d i et al., 1986; 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).

V predchádzajúcej práci (T a k á c s o v á et al., 1993) sme sa zamerali na sledovanie zmien lipidov vzoriek, konzervovaných kombináciou pasterizácie a s prídavkom glycinu stanovením produktov autooxidácie a v tejto práci venujeme pozornosť zmenám v zastúpení mastných kyselín lipidov vzoriek vplyvom kombinovanej metódy konzervácie potravín.

## MATERIÁL a METÓDY

Pri príprave modelového výrobku Domáci hovädzí guláš sme postupovali podľa ČSN 57 6099 s vylúčením prísad a po aplikácii aminokyseliny glycinu. Použili sme hovädzie výrobné zadné mäso, ktoré sme po odstránení tukového tkaniva nakrájali na kocky približne 3 x 3 cm a dôkladne sme ho premiešali s 3,5% prídavkom bravčovej masti a 1,2% prídavkom NaCl.

Množstvo aditívnej látky glycinu bolo určené plánovaným experimentom (L o d e s, Š i m e k, 1978). Príprava vzoriek, ktoré boli konzervované prídavkom glycinu a zníženou intenzitou tepelného zásahu, ich balenie a skladovanie je uvedené v tab. I. Kontrolné vzorky boli vzorky mraziarensky skladované v PE obaloch (vzorka F) a sterilizované v plechovkách P1/2 so vsádzkovou hmotnosťou 420 g v stacionárnom vertikálnom autokláve WEBEC (vzorka G) ako aj vzorka pasterizovaná bez prídavku glycinu (vzorka A).

I. Označenie vzoriek, ich príprava, balenie a skladovanie – Sample indication, their preparation, packing and storage

Vzorka <sup>1</sup>	Metóda konzervácie <sup>2</sup>		Balenie <sup>8</sup>	Skladovanie pri teplote <sup>10</sup> [%]
	glycín <sup>3</sup> [%]	klasická <sup>4</sup>		
A	-	pasterizácia <sup>5</sup> 98 °C/20 min	Omnia	10 ± 2
B	0,43	pasterizácia 98 °C/20 min	Omnia	10 ± 2
C	1,50	pasterizácia 98 °C/20 min	Omnia	10 ± 2
D	2,57	pasterizácia 98 °C/20 min	Omnia	10 ± 2
E	3,00	pasterizácia 98 °C/20 min	Omnia	10 ± 2
F	-	pasterizácia + zmrazovanie <sup>6</sup>	PE	- 18
G	-	sterilizácia <sup>7</sup> 121 °C/50 min	plechovky <sup>9</sup>	+ 20

<sup>1</sup>sample; <sup>2</sup>preservation method; <sup>3</sup>glycine; <sup>4</sup>classic preservation method; <sup>5</sup>pasteurization; <sup>6</sup>pasteurization + freezing; <sup>7</sup>sterilization; <sup>8</sup>packing; <sup>9</sup>ins; <sup>10</sup>storage at temperature

Pri analýze mastných kyselín sme použili tieto metódy:

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

### VÝSLEDKY a DISKUSIA

Pomocou plynovej chromatografie sme sledovali zastúpenie mastných kyselín vzoriek, v ktorých sme identifikovali 15 mastných kyselín (osem nasýtených a sedem nenasýtených). Z esenciálnych mastných kyselín boli prítomné kyseliny linolová, linolénová a v stopovom množstve kyselina arachidónová (tab. II).

Z nasýtených mastných kyselín boli v priebehu skladovania vo všetkých vzorkách v najvyššom zastúpení kyselina palmitová a stearová a z nenasýtených kyselina olejová a linolová. Percentuálne zastúpenie nenasýtených mastných kyselín (NeMK) bolo vo všetkých vzorkách vyššie ako nasýtených (NaMK). Rozdiely v zastúpení mastných kyselín medzi jednotlivými vzorkami nie sú však výrazné.

Z hľadiska stability lipidov majú najväčší význam esenciálne mastné kyseliny (EMK), ktoré sa ľahšie zapájajú do procesu autooxidácie ako monoénové a nasýtené mastné kyseliny. Najvyššie množstvo esenciálnych mastných kyselín v nultom týždni skladovania bolo vo vzorke sterilizovanej (vzorka G), mrazenej (vzorka F) a vo vzorke E s 3% prídavkom aminokyseliny glycínu.

V priebehu skladovania sme pozorovali určité zmeny v zastúpení esenciálnych mastných kyselín. Najvyššie percentuálne úbytky esenciálnych mastných kyselín po 20. týždni skladovania sme pozorovali vo vzorke A (0,61 %), ktorá bola konzervovaná pasterizáciou bez prídavku glycínu. Najnižšie úbytky esenciálnych mastných kyselín zo vzoriek, do ktorých sme aplikovali prídavok glycínu, sme zistili vo vzorke E s 3,00% prídavkom glycínu (0,08 %) a vo vzorke D s 2,57% prídavkom glycínu (0,12 %). Vzorka E, ktorá bola konzervovaná klasickou sterilizáciou v konečnej fáze skladovania, vykazovala najnižší percentuálny úbytok esenciálnych mastných kyselín, avšak rozdiely nie sú výrazné.

II. Zastúpenie mastných kyselín v lipidoch vzoriek v nultom a v 20. týždni skladovania (g.100 g<sup>-1</sup> mastných kyselín) – Representation of fatty acids in the lipids of the samples in the course of 0 to 20 weeks of storage (g.100 g<sup>-1</sup> of fatty acids)

Mastné kyseliny <sup>1</sup>	Skladovanie [týždne] <sup>2</sup>	Vzorky <sup>3</sup>							
		surovová <sup>4</sup>	A	B	C	D	E	F	G
8 : 0	0	•	•	•	•	•	•	•	•
	20	-	0,11	0,07	•	0,06	0,11		
10 : 0	0	0,05	0,08	0,07	0,06	0,06	0,03	0,07	0,04
	20	-	0,10	0,08	0,05	0,07	0,10	0,06	0,07
12 : 0	0	0,10	0,09	0,08	0,09	0,13	0,09	0,09	0,10
	20	-	0,12	0,13	0,09	0,10	0,09	0,11	0,12
14 : 0	0	2,65	1,84	2,03	2,11	1,99	1,71	2,06	1,65
	20	-	2,15	2,21	1,97	2,05	1,93	2,18	2,03
14 : 1	0	1,64	0,57	0,91	0,70	0,85	0,62	0,73	0,46
	20	-	0,69	0,71	0,66	0,77	0,80	0,67	0,59
15 : 0	0	0,13	0,05	0,07	0,08	0,07	0,08	0,07	0,03
	20	-	0,05	0,06	0,08	0,09	0,08	0,07	0,05
16 : 0	0	25,35	24,70	25,15	25,60	24,88	23,82	24,81	25,72
	20	-	26,30	26,50	26,83	27,20	24,23	25,12	25,76
16 : 1	0	3,97	3,33	3,60	3,36	3,36	2,95	3,20	2,98
	20	-	3,21	3,62	3,24	3,12	3,29	3,30	3,25
17 : 0	0	0,31	0,12	0,13	0,15	0,18	0,17	0,16	0,13
	20	-	0,17	0,10	0,15	0,14	0,28	0,18	0,21
17 : 1	0	0,34	0,18	0,25	0,22	0,33	0,30	0,28	0,27
	20	-	0,25	0,32	0,19	0,24	0,43	0,25	0,30
18 : 0	0	15,22	14,31	13,51	14,46	15,07	15,66	15,32	14,77
	20	-	14,91	14,41	14,44	13,99	14,51	14,54	14,31
18 : 1	0	41,53	45,60	45,32	44,78	44,32	45,40	43,85	44,03
	20	-	43,42	43,13	44,07	43,53	45,06	44,47	43,52
18 : 2	0	5,86	7,48	7,11	6,80	7,13	7,31	7,90	8,01
	20	-	6,95	6,97	6,62	6,52	7,66	7,60	8,17
18 : 3	0	1,33	1,65	1,77	1,59	1,63	1,86	1,46	1,81
	20	-	1,57	1,69	1,61	2,12	1,43	1,45	1,62
20 : 4	0	1,52	•	•	•	•	•	•	•
	20	-	•	•	•	•	•	•	•

Mastné kyseliny <sup>1</sup>	Skladovanie [týždne] <sup>2</sup>	Vzorky <sup>3</sup>							
		surovová <sup>4</sup>	A	B	C	D	E	F	G
NaMK	0	43,81	41,19	41,04	42,55	42,38	41,56	42,58	42,44
	20	-	43,91	43,56	43,61	43,70	41,33	42,26	42,55
NeMK	0	56,19	58,81	58,96	57,45	57,62	58,44	57,42	57,56
	20	-	56,09	56,44	56,39	56,30	58,67	57,74	57,45
EMK	0	8,71	9,13	8,88	8,39	8,76	9,17	9,36	9,82
	20	-	8,52	8,66	8,23	8,64	9,09	9,05	9,79
NeMK	0	1,28	1,43	1,44	1,35	1,36	1,41	1,35	1,36
NaMK	20	-	1,28	1,30	1,29	1,29	1,42	1,37	1,35

<sup>1</sup>fatty acid; <sup>2</sup>storage (weeks); <sup>3</sup>samples; <sup>4</sup>raw material

Záverom možno konštatovať, že v súlade s dostupnými literárnymi údajmi vyššie koncentrácie glycínu (2 až 3 %) pôsobia inhibične na nežiadúce zmeny lipidov.

#### 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.
- 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.
- HOLASOVÁ, M. - JIROUŠOVÁ, J. - BLATTNÁ, J.: Stanovení kyseliny linolové a lino- lenové plynovou chromatografií. *Prům. Potr.*, 22, 1971 : 127-129.
- LODES, A. - ŠIMEK, I.: Štatistické metódy plánovania experimentu. In: Zbor. II. celoštát. Sem. OSCHI, Bratislava 1978 : 7-47.
- RODRIGUEZ-PALACIONS, F.: Natural antioxidants. *Technol. Aliment.*, 19, 1984 : 10-28.
- SHAHIDI, F. et al.: Effect of sequestering agents on lipid oxidation in cooked meats. *Food Chem.*, 21, 1986 : 145-152.
- TAKÁCSOVÁ, - DUDÁŠOVÁ, S. - HOZOVÁ, B. - RAJNIAKOVÁ, A. - MINA- ROVIČOVÁ, I.: Zmeny lipidov pri kombinovanej metóde konzervácie potravín s aplikáciou glycínu. *Potr. Vědy*, 11, 1993 : 111-120.
- ČSN 57 6099. Masné výroby. Spoločná ustanovení. 1989.

Došlo dňa 18. 3. 1991

*M. Takáčsová, B. Hozová, A. Rajniaková, I. Minarovičová (Faculty of Chemical Technology of the Slovak Technical University, Bratislava, Slovak Republic)*

### **Changes in the lipid fatty acids of the samples at use of a combined method of food preservation with the glycine application**

By the method of gas chromatography we focused on observation of the changes in representation of lipid fatty acids in the samples. We analysed a model product "Domestic Beef Goulash" preserved by combination of pasteurization at 98 °C temperature in the course of 20 minutes and glycine addition. This paper continues in the work Takáčsová et al. (1993).

The amount of glycine - an additive substance, was determined by the planned experiment (Table I). We compared the changes in the lipid fatty acids in the samples in the course of 20 weeks storage, preserved by a combined method, with representation of lipid fatty acids in the samples without glycine addition - pasteurized, frozen and sterilized.

As a total we identified 15 fatty acids, eight of them saturated (NaMK) and seven unsaturated (NeMK). Out of the essential fatty acids (EMK) linoleic acid, linolenic acid and arachidic acid in the trace amount (Table II) were present. Out of the saturated fatty acids palmitic acid and stearic acid were of the highest representation in the course of the whole storage, and out of the unsaturated acids oleic and linoleic acids. The differences in fatty acids representation among particular samples were not marked.

The lipid stability is influenced by representation of the essential fatty acids, that can be the most easily included into the process of self-oxidation. The highest amount of these acids in the initial phase of storage was in the sterilized and frozen sample and in the sample with 3.0 % glycine addition.

In the course of 20 weeks storage there are certain changes in representation of the essential fatty acids. We observed the highest loss in percentage in the pasteurized sample without glycine addition and the lowest loss in the samples preserved by the combined method in the samples with 2.57 to 3.00 % glycine amino acid addition.

It follows from the results obtained that in harmony with the data from the literature the highest glycine concentrations (2 to 3 %) are of the inhibitory effects on the undesirable lipid changes.

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

# PŘEHLEDY

## ESENCIÁLNÍ MASTNÉ KYSELINY

*Antonín KOPECKÝ*

*Jasmínová 2666, 106 00 Praha 10*

Základní nenasyčenou mastnou kyselinou v přirozených jedlých tucích a olejích je kyselina olejová s 18 uhlíkovými atomy v řetězci a s jednou dvojnou vazbou v konfiguraci cis. Tato dvojná vazba je umístěna mezi 9. a 10. uhlíkem, tj. přesně uprostřed řetězce, který se tak dělí na část metylovou a karboxylovou. Kyselina olejová vzniká enzymovou desaturací z kyseliny stearové působením desaturasy  $\Delta 9$  (B a b a y a n, 1989; S i n g h, C h a n d r a, 1988). Kyselinu olejovou si takto dokážou vyrobit ve svých tkáních jak živočichové, tak i rostliny. Výše nenasyčené mastné kyseliny vznikají z kyseliny olejové při působení specifických desaturas postupným zaváděním dalších dvojných vazeb, vždy v konfiguraci cis, v izolovaných polohách na obě strany od této středové dvojně vazby, tj. ve směru k metylové skupině i ve směru ke karboxylové skupině. Potřebné desaturasy, a tedy schopnost zavádět dvojně vazby na karboxylové části řetězce, mají však jen živočichové a nikoliv rostliny, zatímco na metylovém konci řetězce naopak pouze rostliny a nikoliv živočichové.

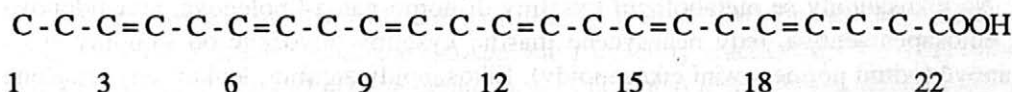
Výzkumy posledních let v oblasti metabolismu nenasyčených mastných kyselin ukázaly, že jejich biologická hodnota závisí nejen na počtu, ale i na poloze dvojných vazeb v řetězci, a to především na jeho metylovém konci. Pro snazší charakterizaci nenasyčených mastných kyselin bylo proto zavedeno číslování uhlíkových atomů v řetězci od metylového konce směrem ke karboxylové skupině (S i n g h, C h a n d r a, 1988), tj. opačné, než je klasické číslování vycházející od karboxylového uhlíku směrem k metylovému. Nenasyčené mastné kyseliny byly rozděleny do tří základních řad, lišících se vzdáleností první dvojně vazby od metylového konce kyseliny a označovaných n-9, n-6 a n-3. Prvními kyselinami těchto řad jsou v daném sledu kyseliny olejová, linolová a alfa-linolenová. Tyto základní, výchozí kyseliny se enzymově metabolizují v další nenasyčené mastné kyseliny s postupně rostoucím počtem dvojných vazeb a uhlíkových atomů v řetězci. Prodloužení uhlíkových řetězců na jejich karboxylovém konci vždy o dva uhlíky obstarávají enzymy elongasy. Vznikají tak mastné kyseliny s 18 až 20 uhlíkovými atomy a s třemi až šesti dvojnými vazbami v řetězcích. K bližšímu seznámení s klasifikací těchto kyselin napomůže přehled jednotlivých metabolických řad (B a b a y a n, 1989; K i n s e l l a, 1986; S i n g h, C h a n d r a, 1988), uvedený v tab. I, a následující poznámky.

Mastné kyseliny jsou v tab. I uvedeny názvy chemickými (podle ženevského názvosloví, pro přehlednost bez vyznačení konfigurací cis dvojných vazeb), příp. i triviálními, a názvy notačními, tj. těsnopisnými záznamy chemické struktury. Uhlíkové atomy v řetězcích mastných kyselin se číslovají pořadovými čísly od metylové skupiny

## I. Nenasycené mastné kyseliny řady n-9, n-6 a n-3

Řada	n:z	n-m	Název kyseliny
n-9	18:1	n-9	9-oktadekaenová, olejová
	↓	Δ6	
	18:2	n-9	9,12-oktadekadienová
	↓	E	
	20:2	n-9	9,12-eikosadienová
	↓	Δ5	
	20:3	n-9	9,12,15-eikosatrienová
n-6	18:2	n-6	6,9-oktadekadienová, linolová
	↓	Δ6	
	18:3	n-6	6,9,12-oktadekatrienová, gama-linolenová
	↓	E	
	20:3	n-6	6,9,12-eikosatrienová, di-homo-gama-linolenová
	↓	Δ5	
	20:4	n-6	6,9,12,15-eikosatetraenová, arachidonová
	↓	E	
	22:4	n-6	6,9,12,15-dokosatetraenová
	↓	Δ4	
	22:5	n-6	6,9,12,15,18-dokosapentaenová
n-3	18:3	n-3	3,6,9-oktadekatrienová, alfa-linolenová
	↓	Δ6	
	18:4	n-3	3,6,9,12-oktadekatetraenová
	↓	E	
	20:4	n-3	3,6,9,12-eikosatetraenová
	↓	Δ5	
	20:5	n-3	3,6,9,12,15-eikosapentaenová
	↓	E	
	22:5	n-3	3,6,9,12,15-dokosapentaenová
	↓	Δ4	
	22:6	n-3	3,6,9,12,15,18-dokosahexaenová

směrem ke skupině karboxylové. Dvojně vazby se vyznačují před chemickým názvem kyselin pořadovým číslem prvního uhlíkového atomu dvojně vazby. Jako příklad uvádím uhlíkový skelet kyseliny dokosahexaenové s očíslovanými uhlíkovými atomy:



Notační záznam používá vzorce  $n : zn - m$ , kde  $n$  je počet uhlíkových atomů v kyselině,  $z$  počet dvojných vazeb,  $m$  pořadové číslo prvního uhlíkového atomu první dvojně vazby od metylového konce. Místo označení  $n - m$  pro polohu první dvojně vazby od metylového konce se používá i méně vhodné označení omega  $m$ , kde omega značí metylový uhlík. Provedením naznačeného odečítání  $n - m$ , dostaneme pořadové číslo prvního uhlíkového atomu první dvojně vazby od metylového konce, platné pro klasické číslování uhlíkových atomů v řetězcích mastných kyselin, tj. od karboxylové skupiny směrem k metylové skupině. E jsou elongasy,  $\Delta$  desaturasy a připojená čísla jsou pořadová čísla prvního uhlíkového atomu vytvořené dvojně vazby podle klasického číslování.

Člověk stejně jako ostatní živočichové má k dispozici destaturasy pro zavádění dvojných vazeb v polohách n-9 a vyšších, ale nikoliv v polohách n-6 a n-3, nedokáže však z kyseliny olejové syntetizovat kyselinu linolovou a alfa-linolenovou, i když tyto kyseliny je schopen dále metabolizovat. Musí proto kyselinu linolovou a alfa-linolenovou získávat potravou. Kyseliny linolová a alfa-linolenová jsou tedy nepostradatelnými exogenními faktory výživy člověka, nezbytnými, tj. esenciálními, složkami jeho potravy. Podobně představují esenciální složku potravy některé aminokyseliny, minerální látky a samozřejmě i vitaminy, ke kterým byly ostatně kyseliny linolová a alfa-linolenová zpočátku řazeny jako vitamin F.

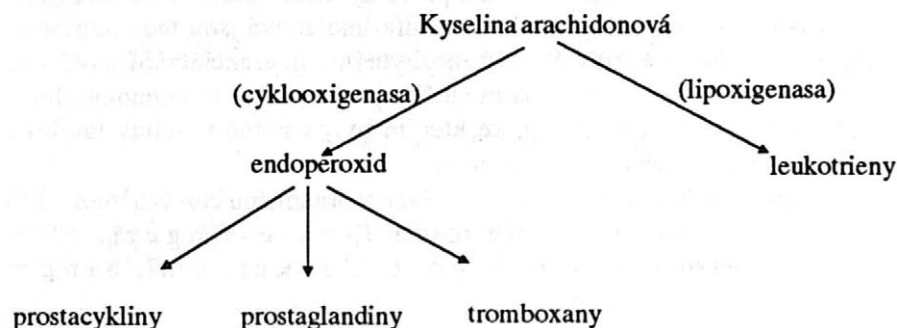
Nenasycené mastné kyseliny řady n-6 a n-3 zastávají v organismu člověka mimo jiné dvě důležité a nezastupitelné biologické funkce (Beare - Rogers, 1988; Kinsella, 1981, 1986, 1988a, b; Pigott, Tucker, 1987; Singh, Chandra, 1988; Wofram, 1989):

1. Jsou složkou strukturálních lipidů buněčných membrán.
2. Jsou prekurzory eikosanoidů, biologicky aktivních látek, svým významem podobných hormonům.

Vázané na fosfolipidy, především na fosfatidyletanolamin a fosfatidylcholin, a to v poloze 2, jsou esenciální mastné kyseliny strukturální součástí intracelulárních organelových membrán. Podílejí se na jejich funkci, propustnosti, pružnosti, na aktivitě v nich vázaných enzymů ap. Vzhledem k nízkému bodu tání (snižuje se úměrně počtu dvojných vazeb) zajišťují tekutost i při nízkých teplotách. Do struktur buněčných membrán se přednostně inkorporují metabolity kyseliny linolové a alfa-linolenové, především kyseliny arachidonová, eikosapentaenová a dokosaheptaenová (např. kyselina dokosaheptaenová je hlavní součástí membránových fosfolipidů v oční sítnici, v šedé kůře mozkové a ve spermatu). Kyseliny linolová a alfa-linolenová se na rozdíl od metabolitů ukládají zčásti v depotním tuku a slouží jako zdroj energie. V krevním oběhu snižují hladiny triacylglycerolů i lipoproteinů s nízkou a velmi nízkou hustotou a volného cholesterolu.

Na eikosanoidy se metabolizují kyseliny di-homo-gama-linolenová, arachidonová a eikosapentaenová, tedy nenasycené mastné kyseliny odvozené od kyseliny eikosanové (odtud pojmenování eikosanoidy). Eikosanoidy zahrnují leukotrieny (značené LT) a prostanoidy, které se dělí na prostaglandiny (PG), prostacykliny (označované rovněž PG) a tromboxany (TX). Uvnitř skupin se eikosanoidy rozlišují podle svých vlastností připojením písmena. Jejich původní prekurzor se značí číselným indexem: eikos anoidy kyseliny di-homo-gama-linolenové indexem 1, arachidonové indexem 2 a eikosapentaenové indexem 3. Z fyziologických účinků eikosanoidů je třeba uvést alespoň ovlivňování funkcí některých žláz s vnitřní sekrecí (mimo jiné i vylučování insulinu), ledvin, cévního systému a hladkého svalstva, dále ovlivňování nitro-buněčných systémů, krevního tlaku, srážlivosti krve, zánětlivých procesů, různých alergických a imunitních reakcí ap.

Objev eikosanoidů patří k velkým úspěchům moderní biologie. Pro člověka jsou nejdůležitější a biologicky nejúčinnější eikosanoidy vznikající z kyseliny arachidonové, eikosanoidy z ostatních kyselin jsou v lidském organismu méně účinné. Schéma tvorby eikosanoidů z kyseliny arachidonové (K i n s e l l a, 1981, 1986, 1988b; P i g o t t, T u c k e r, 1987; S i n g h, C h a n d r a, 1988; S t r e c k e r t, 1976) je:



Strukturálně jsou si eikosanoidy velmi podobné. Vznikají ze své mateřské kyseliny, předem uvolněné z fosfolipidů fosfolipasou A, enzymově účinkem cyklooxygenasy, příp. lipoxigenasy a příslušných eikosanoidních syntetas. Prostanoidy jsou deriváty kyseliny prostanové vznikající z mateřské kyseliny cyklizací střední části jejího řetězce v pentanový kruh. Liší se polohou a počtem dvojných vazeb a funkčních skupin (hydroxylových a karbonylové). Dvojně vazby mohou být v konfiguracích cis i trans, takže jsou možné různé polohové a prostorové isomery. Tromboxany mají v pentanovém kruhu navíc vsunutý kyslík. Leukotrieny se od prostanoidů liší tím, že ve střední části mají místo pentanového kruhu tři konjugované dvojně vazby.

Eikosanoidy se tvoří v různých tkáních a orgánech a ovlivňují jejich fyziologické funkce (K i n s e l l a, 1981, 1986). V určitých tkáních a určitých orgánech vznikají jen určité typy eikosanoidů, které mají vždy zcela určitý, specifický biologický účinek a jsou aktivní jen v místě svého vzniku. Pravděpodobně modulují aktivitu buněk, ve kterých vznikají. Navzdory značné strukturální podobnosti mají některé typy eiko-

sanoidů, i když pocházejí ze stejného prekurzoru, biologické účinky zcela antagonistické. Jsou biologicky vysoce aktivní, i když jsou přítomny v extrémně nízkých koncentracích. Základní produkce eikosanoidů z kyseliny arachidonové je u zdravého dospělého člověka 100 až 400 ng denně, přitom účinnost jednotlivých eikosanoidů je velmi krátká, zhruba 0,5 až 5 minut. Vyšší produkce a funkční uplatnění, příp. porušení rovnováhy antagonisticky účinkujících eikosanoidů vede k patofyziologickým procesům a vzniku různých onemocnění.

Jako příklad lze uvést poznatky o ovlivňování srážlivosti krve prostanoidy odvozenými od kyseliny arachidonové (K i n s e l l a, 1981). Tromboxan  $A_2$  vzniká v krevních destičkách a napomáhá srážení krve a stahování cév. Naopak prostacyklin  $I_2$  vzniká v tepenném endothelu a má účinky přesně obrácené. U zdravého člověka existuje mezi oběma prostanoidy rovnováha, jejíž porušení přináší nebezpečí: převládne-li účinek  $PGI_2$ , dochází k vnitřnímu krvácení, převládne-li účinek  $TXA_2$ , dochází k trombózám. K druhému případu může např. dojít tehdy, je-li tepenný endothel v důsledku aterosklerózy pokryt tukovými deposity, a tudíž prostacyklinová syntetasa vznikající v endothelu nemůže z endoperoxidu vytvořit  $PGI_2$  a srážlivý účinek  $TXA_2$  zůstane nekompenzován. Kromě toho se organismus stává citlivější na  $TXA_2$  i při zvýšené tvorbě prostanooidů, související s vysokým příjmem kyseliny linolové.

Dobrym obranným prostředkem proti neblahému a nekompenzovanému účinku  $TXA_2$  je kyselina eikosapentaenová. Vysvětlení (K i n s e l l a, 1986) je takové, že tato kyselina se podobně jako kyselina arachidonová metabolizuje v prostanoidy, z nichž  $PGI_3$  má stejný protisrážlivý účinek jako  $PGI_2$ , ale odpovídající prosrážlivý  $TXA_3$  je v lidském organismu málo aktivní. Tím protisrážlivé prostacykliny získávají převahu nad prosrážlivými tromboxany. Navíc prostanoidy kyseliny eikosapentaenové konkurenčně potlačují účinnost prostanooidů pocházejících z kyseliny arachidonové. Kyselina eikosapentaenová také omezuje konverzi kyseliny linolové v arachidonovou, protože inhibuje desaturasu  $\Delta 6$ , i přeměnu této kyseliny v její prostanoidy, neboť inhibuje k její přeměně v endoperoxid potřebnou cyklooxygenasu (K a n n e r et al., 1987; K i n s e l l a, 1981, 1986, 1988a b; P i g o t t, T u c k e r, 1987). Tento enzym inhibují např. i tokoferoly (K i n s e l l a, 1981), syntetické antioxidanty a zejména kyselina acetylsalicylová (známý lék acylpyrin) tím, že jej acetyluje. Kyselina eikosapentaenová a obecně i ostatní kyseliny řady n-3 se proto pokládají za protisrážlivý, antitrombotický faktor ve výživě člověka, významně snižující riziko infarktu myokardu, mozkové mrtvice a jiných cévních trombos.

Lidský organismus si sice dokáže vytvořit z kyseliny linolové a alfa-linolenové ostatní potřebné vyšší nenasyčené mastné kyseliny, zejména kyselinu arachidonovou, eikosapentaenovou a dokosahexaenovou, avšak nedokáže to vždy dostatečně pohotově a rychle, jak by v určitých situacích bylo potřebné. Metabolismus esenciálních mastných kyselin je totiž ovlivňován různými okolnostmi.

Desaturasy a elongasy tvoří v buněčných tkáních enzymový systém, který je společný pro desaturaci a elongaci mastných kyselin všech tří řad (W o l f r a m, 1989). Relativně nejvyšší aktivitu (afinitu) projevují tyto enzymy (především  $\Delta 6$ ) vůči

kyselinám řady n-3, podstatně menší ke kyselinám řady n-6 a nejnižší vůči kyselinám řady n-9. Kromě toho uvnitř každé řady klesá aktivita desaturas a elongas s délkou řetězce a počtem dvojných vazeb jednotlivých kyselin. Aktivita těchto enzymů je dále ovlivňována mimo jiné i přítomností jiných nenasycených mastných kyselin. Nadbytek jedné kyseliny omezuje desaturaci a elongaci ostatních kyselin, což platí zejména pro desaturaci základních kyselin jednotlivých řad. Podobně je ovlivňována i tvorba eikosanoidů.

V běžné stravě je kyselina linolová nejvíce zastoupenou esenciální mastnou kyselinou. Její přeměna v kyselinu arachidonovou, pro člověka fyziologicky velmi důležitou, je však poměrně pomalá (K i n s e l l a, 1988b). Kyselina linolová potlačuje metabolismus kyseliny alfa-linolenové, v naší stravě zastoupené nedostatečně, a tím i produkci velice potřebných kyselin eikosapentaenové a dokosahexaenové. Proto se přiznává zvláště potřebným kyselinám arachidonové, eikosapentaenové a dokosahexaenové vyšší stupeň esenciality než jejich mateřským kyselinám, tj. kyselinám linolové a alfa-linolenové. Pro buněčný metabolismus, tj. pro inkorporaci do membránových fosfolipidů a pro tvorbu eikosanoidů, jsou proto cennější vyšší nenasycené mastné kyseliny n-6 a n-3, které má lidský organismus k dispozici v přirozené volné formě, např. v potravě, než tytéž kyseliny, které se musí metabolizovat z kyseliny linolové a alfa-linolenové. Vyšší stupeň esenciality těchto kyselin dokládá např. i skutečnost (K o l e t z k o, M r o t z e k, 1988), že lidské mléko obsahuje nejen kyseliny linolovou a alfa-linolenovou, ale v malých množstvích i kyseliny gama-linolenovou, di-homo-gama-linolenovou, arachidonovou, eikosapentaenovou a dokosahexaenovou, které jsou pohotovou rezervou při rychlém vývoji kojeneckého organismu.

Kyselina olejová, běžná mastná kyselina živočišných a rostlinných tuků a olejů, se v případě dostatečného množství esenciálních mastných kyselin a zejména kyseliny linolové ve stravě nemetabolizuje a zužitkovává se jen jako zdroj energie. Je-li však kyseliny linolové ve stravě nedostatek, kyselina olejová se zčásti metabolizuje za vzniku kyseliny eikosatrienové (K i n s e l l a, 1986), která pak kompenzuje nedostatek kyseliny arachidonové a zlepšuje tím funkce buněčných membrán. Není však prekurzorem eikosanoidů. Kyselině olejové se tedy přiznává jistý biologický význam a nepokládá se, jako ještě nedávno, za pouhý zdroj energie.

Zdroje esenciálních mastných kyselin důležitých pro lidskou výživu uvádějí např. B e a r e - R o g e r s (1988), P i g o t t, T u c k e r (1987) a R e i c h w a l d (1976). Kyselina linolová je hlavní výše nenasycenou mastnou kyselinou suchozemských rostlin. Vysoké zastoupení má v mnohých rostlinných olejích, jako je slunečnicový, podzemnicový, sójový, kukuřičný aj. Kyselina alfa-linolenová je významnou součástí rostlinných olejů, zejména sójového a z pšeničných klíčků. Je také charakteristickou mastnou kyselinou mořského a sladkovodního fytoplanktonu, složeného z řas žijících blízko vodní hladiny. Obě kyseliny jsou obsažené i v cereálních semenech, listové zelenině, v malém množství i v živočišných tucích. Významným zdrojem všech esenciálních mastných kyselin řady n-6 a n-3 jsou tuky a oleje mořských i sladkovodních ryb, mořských savců a jiných mořských živočichů. Výchozí kyselinou linolovou

a alfa-linolenovou získávají vodní živočichové z fytoplanktonu, který je základem potravního řetězce všech vodních živočichů, kteří si z nich ostatní kyseliny metabolizují sami díky své mimořádné schopnosti enzymové desaturace a elongace mastných kyselin. Rybí oleje jsou pro člověka jediným zdrojem esenciálních mastných kyselin řady n-3, zejména eikosapentaenové a dokosaheptaenové. Zvláště bohaté na tyto kyseliny jsou oleje mořských ryb a savců studených oceánů.

Množství a složení mastných kyselin (MK) v přijímané stravě mohou kolísat v širokých rozmezích podle stravovacích zvyklostí. Hodnotí se jednoduchými poměry (Singh, Chandra, 1988), a to MK esenciální/MK nasycené a MK n-6/MK n-3. První poměr má nejčastěji hodnotu desetinu, druhý bývá v rozmezí 4 až 10.

Z hlediska racionální výživy a také z pohledu prevence nemocí oběhu krevního se doporučuje (Kinsella, 1986; 1988b), aby denní příjem tuků u dospělého člověka odpovídal asi 30 % celkové energetické hodnoty denní stravy. Na těchto 30 % by se měly podílet rovnoměrně, stejným dílem, tj. asi 10 %, mastné kyseliny nasycené, mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou (v podstatě jde o kyselinu olejovou) a esenciální mastné kyseliny řady n-6 a n-3. V literatuře se uvádějí i doporučené denní příjmy kyseliny linolové a alfa-linolenové (např. Wolfraam, 1989). Naše doporučené výživové dávky (Kjaba et al., 1989) jsou 7 až 10 g kyseliny linolové a 2,0 až 2,8 g kyseliny alfa-linolenové pro dospělého člověka denně. Zastoupení kyseliny linolové v naší stravě se pokládá za dostatečné, spíše vyšší, než je doporučená dávka, např. v USA je denní příjem kyseliny linolové odhadován asi na 20 g (Kinsella, 1981). Pravděpodobně nedostatečný je však příjem kyseliny alfa-linolenové a zvláště pak kyselin eikosapentaenové a dokosaheptaenové. Příčinou je zcela nedostatečné zastoupení masa ryb a mořských savců v naší „suchozemské“ stravě. Ve vyspělých zemích se tento problém řeší nabídkou různě upravených rybích olejů s určeným dávkováním jako doplněk běžné stravy. U nás je vyráběn přípravek Epavit, který patří mezi takto upravené oleje.

Deficience esenciálních mastných kyselin ve výživě člověka (Kinsella, 1981; Wolfraam, 1989) se projevuje mimo jiné snížením tělesné výkonnosti, citlivostí i odolností vůči infekcím, zhoršenou reprodukční schopností, rizikem rozvoje aterosklerózy a u kojenců zpomalením růstu. V klinické biochemii se posuzuje deficience kyseliny linolové trien-tetraenovým poměrem kyselin (20:3 n-9)/(20:4 n-6) a deficience kyseliny alfa-linolenové pentaenhexaenovým poměrem kyselin (22:5 n-6)/(22:6 n-3).

Nežádoucí účinky může mít i dlouhodobě zvýšený příjem esenciálních mastných kyselin (Kinsella, 1981; 1986; Singh, Chandra, 1988; Wolfraam, 1989). V našich podmínkách může jít jen o zvýšený příjem kyseliny linolové prostřednictvím rostlinných olejů, mající za následek zvýšenou produkci eikosanoidů z kyseliny arachidonové, a tím zvýšené riziko krvácivosti a snad i kancerogeneze (přičítané prostaglandinu E<sub>2</sub>). Toto riziko je potlačováno současným dostatečným příjmem nenasycených mastných kyselin řady n-3. Esenciální mastné kyseliny mohou být toxické i proto, že se v buněčných tkáních snadno peroxidují *in vivo* za vzniku oxidačních produktů s toxickými a mutagenními účinky. Důsledkem je narušení fyzi-

kálních funkcí membrán, a tím celého buněčného metabolismu, zvýšené riziko aterosklerozy, karcinogeneze, tvorby žlučových kamenů, celkově pak zrychleného a předčasného stárnutí organismu. Ochranou je současný zvýšený, resp. adekvátní příjem tokoferolů jako přirozených antioxidantů.

Esenciální mastné kyseliny a z nich zvláště kyseliny řady n-3 hrají ve výživě člověka významnou roli. Jsou nezbytné pro růst, reprodukci, normální činnost svalů, cévního a nervového systému. Preventivně i léčebně potlačují různá chronická degenerativní onemocnění jako jsou ateroskleróza, artritida, astma, různé alergie a zmírňují obtíže těmito chorobami vyvolané.

### Literatura

- BABAYAN, V. K.: Sense and nonsense about fats in the diet. *Food Technol.*, 43, 1989 (1) : 90-91, 207.
- BEARE-ROGERS, J.: Nutritional attributes of fatty acids. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 65, 1988 : 91-95.
- KAJABA, I. - BUDLOVSKÝ, J. - DVORSKÝ, A. - HRUŠKOVIČ, I. - HEJDA, S. - TUREK, B. - OŠANCOVÁ, K. - JODL, J.: Návrh nových odporučaných výživových dávk pre obyvateľstvo ČSSR. *Výživa a zdravie*, 34, 1989 : 68-70, 129-132.
- KANNER, J. - GERMAN, J. B. - KINSELLA, J. E.: Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 25, 1987 : 317-364.
- KINSELLA, J. E.: Dietary fat and prostaglandins: possible beneficial relationships between food processing and public health. *Food Technol.*, 35, 1981 (5) : 89-96.
- KINSELLA, J. E.: Food components with potential therapeutic benefits: the n-3 polyunsaturated fatty acids in fish oils. *Food Technol.*, 40, 1986 (2) : 89-97.
- KINSELLA, J. E.: Fish and seafoods: Nutritional implications and quality issues. *Food Technol.*, 42, 1988a (5) : 146-150.
- KINSELLA, J. E.: Food lipids and fatty acids: Importance in food quality, nutrition and health. *Food Technol.*, 42, 1988b (10) : 124-145.
- KOLETZKO, B. - MROTZEK, M. - BREMER, J.: Fatty acid composition of mature human milk in Germany. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 47, 1988 : 954-959.
- PIGOTT, G. M. - TUCKER, B. W.: Science opens new horizons for marine lipids in human nutrition. *Food Rev. Int.*, 31, 1987 : 105-138.
- REICHWALD, I.: Chemie der Fischlipide. *Fette Seifen Anstrichm.*, 78, 1976 : 328-334.
- SINGH, G. - CHANDRA, R. K.: Biochemical and cellular effects of fish and fish oils. *Progr. Food Nutr. Sci.*, 12, 1988 : 371-419.
- STRECKERT, G.: Prostaglandin-Endoperoxide und ihre Metabolismus in Thrombozyten. *Fette Seifen Anstrichm.*, 78, 1976 : 464-468.
- WOLFRAM, G.: Omega-3 und omega-6 Fettsäuren: Biochemische Besonderheiten und biologische Wirkungen. *Fat Sci. Technol.*, 91, 1989 : 459-468.

### Essential fatty acids

The report reviews in brief the present knowledge of essential fatty acids, their classification, metabolism and importance with respect to the man's nutrition.

## INFORMATION

---

### HIGH EDUCATION IN FOOD CHEMISTRY<sup>\*)</sup>

Information on higher education in food chemistry in Europe has to start by defining the field and the tasks of this discipline.

Food chemistry is an important part of what often described as 'food science' and which is also called 'bromatology' in some countries. As broma is Greek for 'food', this term can be considered equivalent to 'food science'. Food science also comprises food physics, food microbiology, food hygiene, knowledge and history of commodities, etc. Food technology, as a rule, is mentioned separately; the usual term is thus 'food science and technology'. Nutrition science is in many ways related to food science but does not belong to this discipline.

Many areas are of particular importance in the field of food science (Högberg, 1965); these can be enumerated as follows:

1. The study of the properties of both raw and prepared foodstuffs;
2. The study of the composition of foodstuffs and the properties of their individual components;
3. The study of changes in composition and properties during manufacturing, preparation and storage; the development of methods for measuring these changes and of procedures to delay or to prevent unwanted changes;
4. The assessment of quality, wholesomeness and safety of foodstuffs (this also comprises the content of nutrients and the organoleptic properties);
5. The recognition of harmful organisms and components in foodstuffs and, where possible, the development of methods to prevent or eliminate these;
6. The development of methods of analysis for establishing the composition of foodstuffs and for the determination of harmful or otherwise undesirable components in foodstuffs;
7. The development, in cooperation with jurists and others, of adequate food laws, designed to protect public health and to promote fairness in trade.

It will be clear that chemistry is a very important tool for all these areas, particularly for the items indicated by the number 2, 3, and 6. For this reason, any curriculum for food scientists and technologists should embrace an education in chemistry. It must be emphasized that, on the other hand, curricula in food chemistry should contain courses in other fields having relevance to food science and technology.

It has to be stressed that experts in food chemistry are indispensable for an effective regulatory control. This is particularly true for the European Community where control of food has to be effected in the countries of origin, and this at the same level of quality throughout Europe. Experts in food chemistry are also required in food industry which has to guarantee the quality of its products, and these experts, as a matter of fact, should

---

<sup>\*)</sup> This article is an extended revision of a lecture held at the 2nd EFFoST conference "Education, training and qualification of food scientists, engineers and technologists for industry and trade in the 21st century", Brussels, April 1991.

have the same level of food chemistry training as their partners in regulatory control (Thier - personal communications).

### *Curricula including food chemistry*

There are several possibilities for higher education in food chemistry in Europe.

Firstly, there are complete university programmes for training as a food chemist. This is particularly the case in Germany, where the education is settled by legislation. Complete curricula in food chemistry are taught today at sixteen German universities, resulting in the official certificate of 'Legensmittelchemiker' (Food Chemist). Food inspection in Germany has been in the hands of such 'official' food chemists since 1894. They are also working for quality assurance in food industry or as public analysts.

In this context the British 'Public Analyst' should be mentioned as well, although his competence includes more than just food (Martin, 1991).

Secondly, there are many curricula in food technology, which include a more or less thorough training in food chemistry. As food technology can be defined as 'the application of scientific methods to develop or improve procedures for the manufacturing of foodstuffs of desired quality, and of techniques to establish and to maintain this quality' (Walstra, Prins, 1978), it is obvious that these curricula also need to include some education in food chemistry.

Thirdly, there are programs in food chemistry in curricula of the agricultural sciences.

Fourthly, there are curricula in chemistry and pharmacy in which a choice can be made for a course in food chemistry. This enables chemists to have a better start if they are subsequently engaged in chemical research, or other chemical work, in the areas of food or foodstuffs. A comparable argument holds for pharmacists; moreover, it should be borne in the mind that an important part of their education is analytical chemistry. In some cases food chemistry is incorporated in a course which includes both biochemistry and food chemistry.

Finally, most veterinary educations allow the students to get acquainted with problems of chemical food hygiene. This may sometimes include a short course in food chemistry and/or in chemical analysis of foods of animal origin.

### *Food curricula in Europe*

It was at one of the meetings of the Working Party on Food Chemistry\* in Vienna that food curricula in Europe were discussed, and the question arose which universities in Europe had curricula in food chemistry, and how these curricula were built up.

---

\*) The Working Party on Food Chemistry (WPFC) is one of the working parties belonging to the Federation of European Chemical Societies (FECS). At the moment, most European countries have delegates in this Working Party, which meets every year in September. An important activity of the WPFC, which was founded in 1977, is the organization of international symposia on food chemistry. These include the Euro Food Chem conferences and, mostly in cooperation with other working parties or societies, other conferences, which sometimes have an interdisciplinary character.

A survey of food science and technology education in Europe was undertaken earlier by the Commission of the European Communities, and launched at an international symposium in 1979, also in Brussels (Bruin et al., 1984). This survey was focussed on training in relation to food and associated industries in the EC, and contained a lot of detailed information.

A need was still felt, however, to compile curricula in food chemistry and to describe the present-day situation. As could be expected, it was not so simple to obtain a more or less complete overview of the European situation. One of the tasks is collecting data on these curricula, trying to gain an insight into the situation, thereby to gradually complete the information. Of rather more importance are the answers to the questions of which type of knowledge of food chemistry is required by industry, by trade, by governments and - in general - by all institutions performing any work with respect to food or requires ample discussions and more knowledge of the situation and the background before systematic answers can be provided.

At first, a description of the different situations in those European countries on which information was available will be presented. The sequence is rather arbitrary.

**Germany** (Thier - personal communications) The complete curricula in food chemistry have been mentioned already. A two year basic programme is in general identical with the overall basic programme in chemistry but this also includes botany. The main programme (again two years, under the responsibility of special university institutes of food chemistry) lays the emphasis on chemistry and the analysis and technology of food, drinking-water, cosmetics and consumer goods. These are covered by means of lectures and extensive practical work. Additional subjects are food microbiology, food legislation, chemical toxicology, nutrition, etc. The study is completed by a practical year which has to be spent in an official laboratory for food chemistry, and by two state examinations. A scientific investigation is scheduled to be introduced. Yearly more than 200 students are educated.

There are no post-doctoral courses for food chemists or partial training in food chemistry. One university contains an institute in which teachers involved in professional training courses are taught food chemistry.

Food technology curricula exist at two universities (Karlsruhe, Hohenheim) and at two technical universities (Berlin, München). Such curricula are completely separated from those in food chemistry but, as a matter of fact, these include some food chemistry.

In the former GDR the curricula in food chemistry were comparable, but without the practical year. These existed only at two universities, i.e., the Humboldt University at Berlin and the Technical University of Dresden. The numbers of students were not very large. Food technology was taught at four universities.

Students at faculties of veterinary medicine are taught some basic and some practical knowledge which enables them to judge unprocessed food of animal origin. These programmes include food hygiene but not food chemistry.

In **Switzerland** (Battaglia - personal communication), the five years curriculum of the Eidgenössische Technische Hochschule in Zürich (ETH, Swiss Federal Institute of Technology) fulfils an integral part in the education of food scientists. The total annual instream is about 120 students.

Under a special ordinance (first version in 1919) Switzerland has defined the position of Official Food Chemist, which to a certain extent is comparable to the Official Food Chemist in Germany.

The Federal Diploma of Food Chemist, which may lead to a position as official food chemist, is issued on the basis of an examination. The condition one has to fulfil in order to qualify for the examination itself is one of the following:

- a Ph.D. degree, a diploma in chemistry or a diploma in food engineering from a Swiss university;
- a Federal pharmacist's diploma;
- a diploma in agricultural and food sciences from the ETH and a pass certificate in physics, botany and hydrogeology, if these subjects have not been included in that diploma.

Furthermore, a candidate should have attended some courses and lectures on special subjects. In addition to that, he or she should have worked for a period of at least two years in one of the official food analytical laboratories in Switzerland. It is worth mentioning that attending the above-mentioned courses and lectures is usually allowed during the practical stage of attendance at one of the food analytical laboratories. The final examination comprises theoretical examinations on the main subjects, i.e., food technology, food analysis, toxicological analysis, bacteriology, hygiene and knowledge of the legal requirements concerning food. In addition to this, there is also a practical examination in an official food laboratory (preferably the one where the candidate is already working).

Four Swiss universities (Basle, Berne, Geneva, Lausanne) teach food chemistry to students in chemistry and related disciplines which can become a part of the diploma.

It should be noted that this overall situation is considered by many persons to be unsatisfactory due to its complexity and length. The suggestion has been made to create a curriculum in food chemistry at the ETH which would directly lead to the Federal Diploma.

The Faculty of Veterinary Medicine at the University of Berne has a course in meat analysis and hygiene of food of animal origin, whilst the course at the Faculty of Veterinary Medicine in Zürich contains hygiene only. Both courses are part of the diploma in veterinary medicine.

The only full curriculum in Food Chemistry in Austria (Czedik-Eysenberg and Pfannhauser - personal communications) is offered by the General University of Vienna. During the first half of this study (2 1/2 years) analytical, inorganic, organic, biological and physical chemistry are taught. The second half comprises food chemistry, food technology, botany, microbiology, nutrition and toxicology.

At the Technical University of Vienna five-year curricula in Technical Chemistry exist, in which four branches can be distinguished, i.e., inorganic chemistry, organic chemistry, chemical engineering, biochemistry & food chemistry. The first part (2 1/2 years) is a joint programme in which basic science and some technical topics are taught. For the branch Biochemistry and Food Chemistry, the programme of the next 1 1/2 year contains basic chemistry, microbiology, chemistry and technology of natural substances, food chemistry and biotechnology. One semester is for exercises and attending lectures at

choice; the last semester consists of performing an investigation of part of an investigation ('Diplom-Arbeit').

The branch Biochemistry and Food Chemistry is also taught at the Erezherzog Johann (Technical) University at Graz, where it can be followed after a 2 1/2 years' course in chemistry.

In addition, the Agricultural University in Vienna is offering a five-year curriculum in food technology and biotechnology. This includes one-year lectures and one-year laboratory exercises in general chemistry and in food chemistry. During the study the students have to work for six months in food or biotechnological industries or in government food control laboratories, usually during the summer holidays. The curriculum is completed by performing an investigation (Diplom-Arbeit). Both at the Technical and at the Agricultural University the degree of Diploma Engineer can be obtained.

The faculty of Veterinary Medicine at this university, according to statute law, has a post-graduate course in Food Hygiene.

In the former Czechoslovakia (D a v í d e k - personal communication), food chemistry as well as food technology can be studied at the Faculty of Food and Biochemical Technology of the Prague Institute of Chemical Technology and at the Chemical Faculty of the Polytechnical University at Bratislava.

Five years of study is necessary to obtain the degree of Chemical Engineer. During the first 2 1/2 year general chemistry, biology and engineering are taught. The second (equal) period is devoted to food science in general and to one of the following specializations: food chemistry and analysis; enzymic engineering; fermentation chemistry and bioengineering; sugar chemistry and technology; food preservation and meat technology; milk and fat technology.

Food hygiene can be studied at the Veterinary Schools in Brno and in Košice. A course in food chemistry is obligatory for students who chose for the specialism of food hygiene, but is also open for other students of veterinary medicine.

Post-graduate studies in food chemistry are held at the Institute of Chemical Technology in Prague, and at the Faculty of Chemistry in the Slovak Polytechnical University in Bratislava. The goal of these post-doctoral studies is to deliver graduates able to improve qualification and regulation with respect to food.

**Hungary** (L á s z t i t y - personal communication) has full curricula in Food Technology at the Technical University of Budapest, the University of Horticulture and Food Industry, also in Budapest, and the College of Food Industry in Szeged. At the Universities three years' curricula (engineering degree) and five years' curricula (diploma engineer degree) are organized. In Szeged only the three years' curriculum exists. The engineering degree is more practical, whilst the diploma degree is more theoretical and less specialized. Food chemistry is generally one of the topics and includes lectures, laboratory practice and industrial practice.

Courses in food chemistry are taught at some faculties of chemistry (Debrecen, Gödöllő), but no special chairs in food chemistry exist. A course in food science is obligatory for some groups in Animal Science and for Veterinary Medicine as far as it concerns students engaged in veterinary food control.

Post-graduate trainings in food chemistry are given in Budapest and at the Agricultural University in Keszthely. There are short courses (1 to 3 months) and special courses (1 to 2 years) leading to a certificate.

Food science can be studied in Poland at the two technical universities (Gdansk, Łódź) and at the seven agricultural universities (Warsaw, Olsztyn, Poznan, Kraków, Wrocław, Lublin and Szczecin) (Wilska-Jeszka - personal communication). All these universities award only one type of degree, which takes five years, but a programme dividing the courses in two steps is now under discussion.

The curricula vary from university to university. Generally there is no special course in food chemistry. Only at Gdansk and at Kraków courses in food chemistry are obligatory. No university in Poland has a chair in food chemistry.

At some medical universities students can choose for bromatology within the faculty of pharmacy. This includes some elements of food chemistry as well as methods for the analysis of food.

At present there are no postgraduate courses in food chemistry.

In **Bulgaria**, food sciences is taught at the Higher Institute of Food and Flavour Industry at Plovdiv. The programme covers five years.

There is no specialization of food chemistry in Bulgaria yet. However, such a specialization is being organized now in Plovdiv, and a specialisation after the third year will be started at the Faculty of Chemistry of the Kliment Okhriski University at Sofia.

A postgraduate training in food chemistry and biochemistry exists at the Plovdiv institute and will be organized, in the near future, in Sofia as well (Kratchanov - personal communication).

Further information regarding education in food chemistry in Eastern and South-Eastern Europe is scarce. A curriculum in food technology in Zagreb (**Croatia**) contains some food chemistry but not in a specialized course (Petrović - personal communication). Other information from this area was not available.

In the **United Kingdom** there are about forty first-degree courses in Food Science and/or Technology at universities and at institutes belonging to the Council for National Academic Awards (CNAA) (Wedzicha, 1990/91; Fenwick - personal communication). These lead, in three or four years, to a B.Sc. degree. One can distinguish between a 'pass' degree (usually three years) and an 'honours' degree (usually four years). There is not one uniform course but a variety of programmes differing from one university (or institute) to the other. Courses with the title 'Food Science' (about one-third of the total number) are aimed at providing a balanced coverage of the discipline and involve a smaller contribution from technological aspects, allowing greater emphasis on fundamental scientific issues.

As for a U.K. food science education, the course in Food Science at the University of Leeds may serve as an example. It is one of the last that has a four-year curriculum.

The first year's program includes lectures and practical work on physics, organic chemistry, biophysics, biochemistry, food biochemistry and food technology. Furthermore, lectures on mathematics are given.

In the second year, physical chemistry and general microbiology are introduced. Food science is extended to food quality and nutrition, food physics and food engineering, food colloids, texture and rheology, and legislation, statistics and computing.

Food microbiology is taught in the third year in connection with the general microbiology course given previously. During this year, food components, principles of food processing operations, interactions of food components, and food analysis.

The last year is devoted to processing and storage of the major food commodities and to multiple options on various advanced topics. Finally, a research project and a team project should be carried out.

In addition to a B.Sc. education degree, M. Sc. courses in Food Science can be followed, even when the B. Sc. degree obtained is not in this field. (A relation with food science, however, is desirable).

M. Sc. courses with respect to food science, as a rule, are rather specialized and are in many cases devoted to some particular commodities. Several food chemistry courses exist. An M. Sc. course usually takes 18 months. As the interest for M. Sc. courses is large, it is not always easy to obtain a place in such a course.

Apart from this, the training that leads to the Mastership of Chemical Analysis (M. Chem. A.), necessary for being appointed as a Public Analyst, has to be mentioned here. The candidate should have adequate experience in a Public Analyst's laboratory or in closely related work. The examination consists of three parts (i.e., A, B and C), which include theoretical and practical parts (M a r t i n, 1991).

No food science is present in the curricula of faculties of Veterinary Medicine (A . E . E . E . V, 1989).

In Ireland (F o x - personal communication), food chemistry is available as a subject only at University College, Cork, Recently (1990) University College, Dublin, introduced general food science as an option within their Agricultural Science programme. The Veterinary Faculty of this university also includes some aspects of food science in their programme.

One course in Cork leads to a single subject honours B.Sc. in food chemistry. In the first year, chemistry, physics, mathematics and biology are taught. In the second and third years, food chemistry is the main theme with biochemistry also obligatory. In the third year, students may choose one of the following: chemistry, microbiology or nutrition, as their subsidiary subject. The fourth year is devoted to food chemistry only.

Food chemistry is taught as the main subject in a pass B. Sc. programme. The first two years are as for the honours programme; the third year contains food chemistry plus two of the following: biochemistry, microbiology, nutrition, chemistry or mathematics.

Finally, food chemistry is a part of a four years course in Food Science and Technology, but the total time devoted to food chemistry may exceed that of the pass B.Sc. programme.

In France (D u c a u z e - personal communication), food science is considered to be a specialized field that can be studied after a general education only. This general education takes a period of 4 years at a university or by means of the particular French system of „Grandes Ecoles“. The specialized training in food science consists of a one-year course. There are several food science courses in France, mostly taught by a Grande Ecole associated with a university. The relative importance of the food chemistry part varies from course to course.

Another option leads to an M.Sc. degree in which training in food chemistry is often more prominent. The participation in these degree courses is limited because of selection criteria. The courses can be followed at four institutes in Paris., i.e.:

- INA P-G (Institut National Agronomique Paris-Grignon), which has a very marked orientation for food chemistry;
- ISAA (Institut Supérieur de l' Agro-Alimentaire);

- ENGREF (Ecole Nationale de Génie Rural d'Eaux et de Forêts);
- ENSV (Ecole Nationale des Services Vétérinaires).

As in the United Kingdom, no courses in food science exist at faculties of Veterinary Medicine (A. E. E. E. V., 1989).

Finally it has to be mentioned that courses in food analysis can be followed in some of the French faculties of Pharmacy.

Four universities in Italy (Marchelli - personal communication), i.e., in Milan, Udine, Naples and Compobasso, have full curricula in Food Science and Technology (five years). These curricula contain many elements of food chemistry such as chemical analysis of food, biochemistry of food, additives and residues in food, fermentation chemistry and flavour chemistry, but do not have a special course in food chemistry.

Chairs in Food Chemistry are attached to the faculty of Pharmacy at twelve universities. In Milan, such a chair is attached to the Faculty of Agriculture. The courses (on a semester base from 1991 on) vary from university to university but in most cases cover a systematic description of food products. The course is obligatory for the curricula in Pharmaceutical Chemistry and Technology and facultative for the curricula in Chemistry and in Pharmacy. It is also offered to students in biology and to students in other faculties (though rarely attended by this category).

Post-graduate training in food chemistry and technology is offered at the universities of Parma and Bologna. The purpose of these two-year courses is to provide professional qualifications for advanced food technologists to be employed in the food industry.

The faculties of Agriculture at the universities of Milan, Udine and Bologna have three-year post-graduate courses in food biotechnology leading to a Ph. D. degree, whilst the faculty of Medicine in Rome offers a three-years course in food science which is directed towards nutrition.

In one of the faculties of Veterinary Medicine (Perugia), an optional course in chemical analysis of food of animal origin exists.

**Spain** (Benedito de Barber - personal communication): Until now, there are no complete curricula for Food Science and Technology. For students who graduated in chemistry, biology, pharmacy, veterinary medicine or at a polytechnical university, a course in food technology can be followed which, after ten months, leads to a diploma. Since 1985, postgraduates can receive a M.Sc. degree in Food Technology and Engineering in Valencia.

Recently, courses in food technology were introduced in some Spanish faculties of chemistry. Food chemistry is now included.

As in Italy, several chairs in Food Chemistry exist at faculties of Pharmacy (Deelstra - personal communication).

In all faculties of veterinary medicine, science and technology of food of animal origin is taught. Murcia has a course in bromatology, and Barcelona offers an optional course on chemical analysis of food of animal origin (A. E. E. E. V., 1989).

The situation in **Portugal** (Empis - personal communication) with respect to food chemistry is a complicated one. Food analysis is taught at the faculties of Pharmacy in Coimbra, Lisbon and Oporto. The courses include chemical and microbiological aspects of food, but no attention is paid to other aspects of food science.

Full curricula in food science and technology exist at Braga, Coimbra and Oporto. The Technical University of Lisbon and the Catholic University of Oporto have postgraduate

courses in food science and technology with full curricula. At the Universidade Técnica Superior de Agronomia, Lisbon, food science and technology are included in some curricula, in varying quantities. Courses including food chemistry are available as well at the Escola Superior de Medicina Veterinária and the Instituto Superior Técnico, both at Lisbon. Food chemistry is also included in a course on biochemistry at the University of Aveiro.

In **The Netherlands**, food chemistry can be studied at the Agricultural University in Wageningen. The undergraduate stage lasts at least four years and leads to a M.Sc. in food engineering. The second stage may be research training culminating in a Ph.D. (again four years).

In the first year, the students take courses in basic disciplines such as physics, general and physical chemistry, mathematics and statistics, cell biology, economics and an introductory course in food and nutrition. After this, they have to choose for one of the four major programmes, i.e., food science, food process engineering, dairy science and a free orientation. In all programmes the students have to take a series of basic courses in food technology (introduction to process engineering, food process engineering, introduction to food physics, introduction to food microbiology and hygiene, human nutrition, food toxicology) and a differentiation programme (in total two years of study). As to food science there are five differentiations, i.e. food chemistry, food microbiology, food physics, quality assurance and food fermentation. Basic courses and differentiation take another two years. The last year includes advanced courses in food technology subjects plus some other courses, a training period in industry and a research project of five months.

At the University of Utrecht a chair in food chemistry is attached to the Faculty of Veterinary Medicine. The contribution to the veterinary education is in the field of meat chemistry and chemical food hygiene (contaminants and veterinary drug residues in food of animal origin). Since a few years, food chemistry is taught, also from this chair, within the faculty of Pharmacy. Students of various disciplines can take a five months research training in food chemistry.

In **Belgium** (Deelstra - personal communication), no food chemistry is incorporated in any chemical curriculum except in Antwerp, where food chemistry is one of the options.

All students in Pharmaceutical Sciences have to follow courses in food chemistry, with an emphasis on adulteration and their detection. The tendency is, however, to stress biomedical aspects at the expense of analytical aspects.

In the faculties of Agricultural Sciences, degrees in Agricultural Sciences and also in 'Chemistry and Agricultural Industry' can be obtained. In both food chemistry is taught. The same holds for a post-graduate course in bio-industrial sciences.

The curricula of the faculties of Veterinary Medicine (Ghent, Liege) contain obligatory courses in the chemical analysis of food of animal origin.

For those veterinarians who want to become licenced in Veterinary Food Inspection there are additional courses in food chemistry.

In Antwerp there is an optional course with respect to xenobiotics in foods for students in chemistry.

In **Denmark** (Storgaard Jorgenson - personal communication) the Veterinary and Agricultural University in Copenhagen (Frederiksberg) has specializations in

Dairy Science and in Food Science. Presently the two lines of study are formally separate but with several courses in common. Dairy Science is 5 years, including a first year in the dairy industry at a technical college. Food Science is 4.5 years, all at the University. Both lines begin with basic sciences such as mathematics, physics and particularly chemistry (general, physical, analytical and biochemistry). Microbiology and physiology are included as well. Apart from the subject matter the two lines then differ in the way that Food Science places more emphasis on nutrition and food microbiology and hygiene, whereas Dairy Science puts emphasis on technological aspects, although Food Science also ends up with technological course.

Both lines lead to the equivalent of a M.Sc. degree. There is no structured B.Sc. degree.

According to plants which are in progress, in future there will be one common bachelor degree (3 years) followed by two different master degrees (general food science and dairy science; 2 years each). A third 2-year master degree in human nutrition based on the same bachelor degree is also being planned.

At the Technical University in Copenhagen (Lyngby), chemical engineers may specialize in Food Science and Technology. During the 5-year curriculum approximately one year of courses in various branches of food science can be followed.

In future a closer cooperation, also on course level, is being anticipated between the two Universities.

The most relevant education in food chemistry and technology in Norway (R u s s w u r m jr. - personal communication) is also at the Agricultural University (AS). A student can choose for food technology, industrial food economy, dairy chemistry and technology, and dairy technology. The five years courses lead to the equivalent of a M.Sc. degree.

Tromsø has an education in fishery science which includes fish chemistry.

At the University of Oslo food and biological science is taught as a postdoctoral course.

The veterinary education, also at Oslo, contains a course in food hygiene which also includes chemical hygiene.

In Sweden (R e i o - personal communication), all students in chemistry can choose food chemistry, food technology or nutrition as part of their study.

Food science is taught, as one of the courses in applied chemistry, at the University of Lund, where biochemistry takes an important place in this curriculum.

At the Chalmers University of Technology, Göteborg, a department of food science exists. This is part of the Chemistry Department and of one of the departments of Technical Chemistry.

The Swedish University of Agricultural sciences, Uppsala, has a Department of Agricultural and Food Chemistry, and a Department of Food Chemistry and Milk Products.

Finally, the National Food Administration at Uppsala teaches selected courses for the Uppsala and Stockholm universities in nutrition and toxicology for medical students. Food chemistry is included as well.

It is interesting to note that in Finland (L i n k o and W a l l i n - personal communication) two full curricula in Food Chemistry exist, i.e., at Helsinki and at Turku. The former curriculum belongs to the Helsinki University of Technology, Faculty of Agriculture and Forestry, whilst the latter is incorporated at the University of Turku, Faculty of Mathe-

matics and Natural Sciences. In these curricula more than 40 % is devoted to food chemistry. In Turku there is also a strong emphasis on general chemistry and on biochemistry, whilst in Helsinki the education includes more of other branches of food science. In the Faculty of Agriculture and Forestry the curriculum in food chemistry leads to a degree in food science. The length of this curriculum is 160 study weeks of coursework and 20 study weeks towards a master's thesis, which means 4 1/2 to 5 years of study. A special feature in Turku is a close contact with the biochemistry curriculum. The length of the curriculum in Turku is 160 weeks as well.

At both universities, short courses in food chemistry are given as well for students of other curricula. The Faculty of Agriculture and Forestry (Helsinki) has a variety of chairs, e.g., food technology, cereal, milk and meat technology, food economics, nutrition and microbiology with their own curricula, where some short courses integrated with studies of food chemistry are given.

### *Structure*

As mentioned earlier, this overview is not complete, and for some European countries information is completely lacking. Nevertheless, the available data provide a rough indication of the unstructured situation regarding education and training in food chemistry. Obviously the source of this lack of structure lies in the absence of consensus or even consultation within Europe concerning these curricula. In contrast to this, a well-defined structure in food chemistry education has existed for almost hundred years in Germany.

In this context the standards for undergraduate education in food science and technology, developed by the U. S. Institute of Food Technologists (IFT) should be mentioned as well (A n o n y m o u s, 1962, 1966, 1977). These standards are recently discussed by Fennema (F e n n e m a, 1989) and are under revision now (H o p p e r, 1990).

Whether or not a comparable situation in Europe is reached will depend on our ability to arrive at a collective description of our wishes and to know in what way these wishes can be realized. We have, therefore, to consult food industries which need food chemists, institutes working in food research, government services involved in food control, food production and foodstuffs, and other scientists performing research on foodstuffs.

Before such a journey is commenced, a clear idea about the structure of curricula and courses in food chemistry is imperative. Not more than a few headlines can be given here. It is obvious, however, that a complete food chemistry programme has to start with a thorough training in the fundamentals of chemistry, that is, teaching the students to understand chemical structure and chemical reactivity.

This means study of fundamental organic as well as inorganic chemistry, which must go further than teaching reaction mechanism only. Chemical reactions usually take place in heterogeneous systems (such as foodstuffs), and are influenced by this heterogeneity. This is one of the reasons why physical chemistry merits an important place in the basic education. It needs no further explanation that biochemistry should be taught as well.

A sound base has to be laid from the beginning with respect to knowledge of and experience in analytical chemistry. This holds, to a certain extent, for any chemist, but is especially true for the food chemist because of the essential role of the chemical analysis in food science.

As for the training in analytical chemistry, it is not only the knowledge and performance of modern analytical methods that has to be taught, but also the organisation of analytical centres for the examination of foodstuffs and how to guarantee the quality of analysis. It should also be stressed that, in Europe, there is a strong tendency towards quality control of analysis.

It may be a matter of dispute whether a start should be made with basic sciences and the education be finished with the most applied subjects, or that the education should begin with food-oriented courses and basic sciences be taught later on in order to improve the understanding of the applied subjects. Walstra [30] is of the opinion that, for food technology, it is often the best to develop hybrid forms. In the experience of Koivistonen and Broman (Helsinki University of Technology) a more integrated approach, with some applied courses right from the beginning, may work better for reasons of student motivation, and that a reasonably close integration of basic sciences and professional courses gives a far better possibility to understand the causal connections between the theoretical backgrounds and the applications. They agree, however, that a sound basis is necessary (Koivistonen and Broman - personal communication through H. Wallin).

Starting from the German example (but without losing sight of other systems such as, for example, the M. Chem. A. degree for public analysts in the United Kingdom (Martin, 1991), I would suggest the following scheme:

- a thorough training in general chemistry during the first two years, completed by courses in physics, mathematics, statistics and biology, and including some introductory courses in food science;
- food chemistry in the next two years: application of acquired chemical knowledge to complicated systems such as food and raw materials, and the preparation of foodstuffs. Complementary courses have to be given in other relevant fields as food technology, biotechnology, food microbiology, food physics, food toxicology, nutrition, botany, microscopy, sensoric analysis, knowledge of commodities, and food legislation. It would be very useful for two groups of food, e.g., one from plant and one from animal origin, to be considered in detail, as examples.

In the course of all four years the student should be trained in analytical chemistry. The analytical education should be extended from simple methods (but with a thorough consideration of basic principles and measurements) to exercises in modern techniques in the field of mass spectrometry, nuclear magnetic resonance, Fourier transformation infrared spectrometry, etcetera. For this purpose, short courses would have to be incorporated in the curriculum. In addition, screening methods and the application of a variety of probes deserve attention as well. The importance of applied analytical chemistry should be stressed in particular.

In the fifth and last year, a research project should be performed (at least for half a year) and an extended thesis should be written.

#### *The role of higher educated workers in production and handling of food*

The role of experts trained in food chemistry can hardly be overemphasized. In the field of production and handling of food, however, there is also a need for many other

people who have received a higher education in a variety of disciplines. This is summarized in Fig. 1.

1. Scheme presenting the role of engineers and scientists in the production and handling of food

The position of food scientists (other than food chemists) and food technologists will be clear. They all will be faced with chemical problems and, for that reason, should have knowledge of both basic and food chemistry. So, these disciplines should be present in their curriculum as well.

Next, the basic scientists. For a number of reasons fundamental research on food and foodstuffs is necessary. It is obvious that this research can be done by food chemists as far as it concerns chemical problems. It has to be stated, however, that food or food components

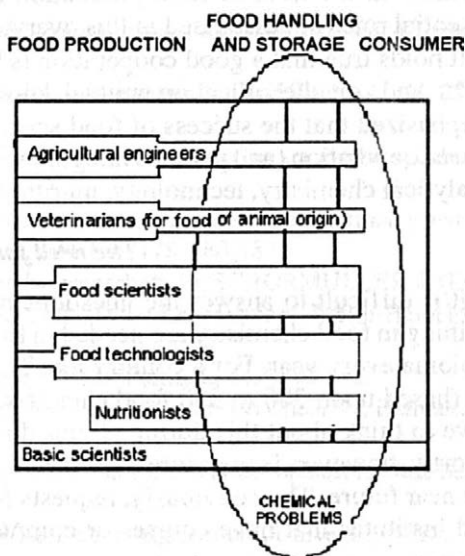
are not fundamentally different from other natural compounds. Therefore a thorough training in food chemistry is not always necessary for these workers. Moreover, pharmacists, biologists and others can be involved in this field of research as well, depending on the problem under consideration. Of course an introduction in food chemistry is useful.

For many other tasks, however, a thorough education in food chemistry is obligatory. As indicated in the scheme, chemical problems with respect to food and foodstuffs are present within a large area and need to be solved by well-educated people. It is a great pity that not all faculties of chemistry are aware of the necessity for having good education and training programmes in food chemistry.

It does not need much explanation that nutritionists should be taught food chemistry. I only want to stress, amongst other aspects, the many reactions in food that will influence the nutritional value.

Agricultural engineers are closely involved in the production of raw materials with respect to food preparation and therefore should have some knowledge of food science. Although they have to concentrate themselves, in the first place, on their own discipline, they also have to cooperate with food scientists and food technologists. For a fruitful cooperation they should know, in general terms, how their colleagues are involved in the extended food chain. For this reason, food science and technology have to be taught, to some extent, to students in agriculture, but without the necessity of going into all chemical details.

Veterinarians involved in animal production and veterinary hygiene should be taught some food chemistry as well, preferably within the context of a food hygiene course.



Like the agricultural engineers, they also have to cooperate with food scientists and food technologists, and the same arguments apply.

Finally, the non-defined areas in the scheme. These represent the many non-scientific workers in the field of food production and food handling, who play the number of essential roles not discussed in this overview.

It holds true that a good cooperation is based, as the one hand, on a good division of tasks and, on the other, on mutual knowledge of the different fields. It should be emphasized that the success of food science is, for a considerable part, based upon the close cooperation (and perhaps integration) with other disciplines such as basic sciences, analytical chemistry, technology, nutrition science and even medical disciplines.

### *The need for food chemists*

It is difficult to answer the questions how many people with a higher education or training in food chemistry are needed in Europe and how many students should get their diploma every year. For a country like The Netherlands this may be a number of 15 to 20 (based upon 300 to 350 food chemists actively working in the field). Of course we have to think about this during all our discussions with respects to this field. The first priority, however, is to ensure a good education in food chemistry throughout Europe in the near future. This, obviously, requests for a network of contacts between universities and institutes that have courses or complete curricula in food chemistry in their programme.

Important questions will be

- Which practical trainings, courses etc. exist?
- Which is the scope and content of the theoretical educations? Which books are used and which syllabi? Which lectures are given?
- What are the requirements for the examinations? Next, possibilities should be investigated for the exchange of students and teachers to benefit from specialities which are not available in all curricula, and for broadening general knowledge.

It should be stressed that it is not necessary to make education and training as equal as possible. Some uniformity is, however, very useful.

### *Conclusion*

The importance of chemistry in a number of matters concerning food and food products is without any doubt. This emphasizes the need for good education and training in this field. The diversity of courses in this field indicates that, up till now, this education is insufficiently developed throughout Europe. A need exists for more cooperation in this discipline and, with regard to some countries, for more complete education programmes.

It is important to realize that this overview does not pretend to be much more than a first exploration. Further work regarding this matter needs many additional contribution. It would be very valuable if there could be a growing cooperation between food chemists involved in higher education.

*Acknowledgements* The author thanks all those who provided him with information regarding curricula in their own countries, in particular to Prof. Dr. H. - P. T h e i r and Dr. G. R. F e n w i c k for valuable remarks.

## References

- ANONYMOUS: Conference on undergraduate education in food science and technology. Food Technol., 16, 1962 : 42-44, 46.
- ANONYMOUS: IFT council adopts undergraduate curriculum minimum standards. Food Technol., 20, 1966 : 61-63.
- ANONYMOUS: IFT undergraduate curriculum minimum standards. Food Technol., 31, 1977 : 60-61; 44, 1990 : 32-33, 40.
- BRUIN, S. - HALLSTRÖM, B. - JOWITT, R.: Food process engineering - a model syllabus. J. Food.. Eng., 3, 1984 : 205-223.
- FENNEMA, o.: Educational programs in food science: a continuing struggle for legitimacy, respect, and recognition. Food Technol., 43, 1989 : 170-172, 174-176, 178, 180-182.
- HÖGL, O.: Aufgaben und Probleme de Lebensmittelwissenschaft. In: SCHORMÜLLER, J. (Eds.): Handbuch der Lebensmittelchemi. Band I. Die Bestandteile der Lebensmittel. Berlin-Heidelberg-New York, Springer-Verlag 1965 : 76-99.
- HOPPER, p. f.: New goals for food science education. Food Technol., 44, 1990 : 12.
- MARTIN, P. G.: Public Analyst in the United Kongdom. Proc. Euro Food Chem VI, Hamburg, B. Behr's Verlag, GmbH & Co. 1991 : 51-58.
- WALSTRA, p.: University education in food technology: the various philosophies. Lecture held at the 2nd EFFoST conference. Brussels, April 1991.
- WALSTRA, P. - PRINS, A.: Inaugural lectures. Wageningen, Agricultural University 1978.
- WEDZICHA, B. L.: Food Science & Technology with Hotels, Cataring and Tourism in UK universities, polytechnics and colleges - Degree course guide 1990/91.
- Association européenne des établissements d'enseignement vétérinaire (A.E.E.E.V.). Curricula - Document réalisé avec l'aide de la Commission des Communautés Européennes dans le cadre du programme ERASMUS. 1989.

*A. Ruiter,*

*Faculty of Veterinary Medicine, Department of the Science of Food of Animal Origin,  
Chair of Food Chemistry, University of Utrecht, The Netherlands*

# RECENZE

---

## NÁHRADA CUKRU JINÝMI SLADIDLY

E. Davídková - J. Dostálová

Praha, ÚVTIZ 1991. 30 s.

Ústav potravinářských a zemědělských informací (do roku 1992 Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství) vydává kromě řady časopisů také studijní informace, které slouží pro rychlou informaci našich zemědělských a potravinářských odborníků o aktuálních významných tématech. V řadě „Výživa a potraviny“ vyšlo několik studií, mezi jinými také recenzovaná práce o sladidlech. Upozorňuji na existenci této řady, která není u nás dost známa a dostatečně oceňována.

Problematika sladidel je důležitá pro diabetickou a redukční dietu i pro zdravotní prevenci. Mnoho výrobců potravin i hotových pokrmů proto bude mít hlubší zájem o podrobnější informace, zvláště když se výrobou dietních potravin zabývají především drobné podniky, kde zpravidla není k dispozici vývojové nebo informační středisko.

Málo čtenářů si uvědomí, že i cukr je vlastně také náhradním sladidlem, a to za věcí med. Ve studii je stručně podána historie výroby cukru, který se u nás rozšířil teprve v minulém století. Dnes je cukr již tak běžný, že náhradní sladidla se mají svou chutí co nejvíce podobat cukru, musejí být zdravotně nezávadná a technologicky vyhovující.

Těžiště studie je v popisu jednotlivých náhradních sladidel, a to jednak syntetických, strukturou nepodobných cukru (sacharín, cyklamáty, aspartam, acesulfam K), jednak přírodních, která mohou mít opět chemické složení odlišné od cukru (steviosid, thau-matin) nebo mohou mít strukturu cukrů (fruktosa, fruktosové sirupy), event. mohou být připravena hydrogenací nebo hydrolýzou cukrů (sorbitol, xylitol, manitol, laktosový sirup, laktitol, maltitol, lykasin, palatinit).

Dále se ve studii pojednává o problémech spojených s aplikací náhradních sladidel v potravinách a nápojích, např. s nutností zakrýt nahořklou pachučí, dodat výrobku dostatečnou viskozitu nebo vzít v úvahu změny při záhřevu nebo skladování, způsobené hlavně hydrolýzou. Často se osvědčuje přidávání směsí sladidel a různých zahušťova-del, hlavně rostlinných polysacharidů, jako jsou různé rostlinné gumy, škrob, modi-fikovaná celulóza či modifikovaný škrob, nebo také některé bílkoviny, např. želatina.

V bývalé ČSFR byla výroba náhradních sladidel neuspokojující; kromě sacharínu a směsí sacharínu s cyklamátem přichází v úvahu xylosa a soritol. V budoucnosti se patrně budou náhradní sladidla hlavně dovážet.

Studie přináší přes svoji stručnost všechny základní informace a měla by se stát vhodnou příručkou pro výrobce potravin a pokrmů, i pro dovozce nebo nákupčí potravinářských aditiv.

## ZDRAVOTNÍ NEZÁVADNOST POTRAVIN

J. Šindelářová a kol.

*Praha, Ministerstvo životních prostředí ČR 1991. 144 s.*

Zdravotní nezávadnost potravin patří k prioritám zájmu občanů a k nejdůležitějším faktorům určujícím kvalitu životního prostředí. Recenzovaná knížka se nezabývá, jak bychom mohli usuzovat z názvu, zdravotní nezávadností v celé šíři, ale jen kontaminací potravin škodlivými chemikáliemi; jen letmo je zmíněna fyzikální (hlavně radioaktivní) kontaminace a biologické vlivy (hlavně kontaminace mikroorganismy). Do rámce publikace také není zahrnuta možná kontaminace nebo dekontaminace během potravinářského zpracování surovin nebo skladování. Tímto zúžením bylo možné hlouběji pojednat o dané tématice.

V úvodu (J. Čihálík) je vysvětlen význam problematiky a hlavní pojmy i zvláštnosti laboratorní analýzy stopových látek. V další kapitole (J. Šindelářová) je diskutován systém kontroly zdravotní nezávadnosti potravin v zahraničí a u nás, kde dosud přetrvávají některé nedostatky z minulého období. Podrobně a přitom přehledně je zpracována kapitola o znečištění půdy jako primárního článku potravního řetězce (J. Penk). Při aplikaci přípravků na ochranu rostlin se klade důraz na integrovanou ochranu rostlin a s ní spojenou minimalizaci negativních vlivů chemické ochrany rostlin (J. Svítal). V kapitole o pesticidech a jiných organických kontaminantech (J. Hajlová) je výborně zpracován přehled o jednotlivých typech přípravků a o dynamice jejich změn po aplikaci v zemědělství. U cizorodých látek v živočišné výrobě je pozornost zaměřena na znečištění toxickými minerálními složkami a ukazuje se na její příčiny v kontaminaci půdy i krmiv (S. Zima). Do přehledu není zahrnuta kontaminace biologicky účinnými přísadami, jako jsou antibiotika, hormony nebo uklidňující látky. Pro potravinářské odborníky má neobyčejný význam kapitola o sledování zdravotní nezávadnosti potravin, v níž je z hlediska zdravotní prevence (B. Turék) probrána nejen otázka stanovení povolených limitů různých cizorodých látek, interpretace výsledků kontrolních analýz, ale jsou takto srovnány stupně znečištění potravin u nás a v zahraničí; celková kontaminace našich potravin se zdá dosti vysoká. Je zde poukázáno na význam vzájemného vztahu jednotlivých složek a na význam celkového hodnocení příjmu sledovaných látek stravou a nikoli jen oddělenými výrobky. Na konkrétních výsledcích kontrolního šetření u nás (obsah těžkých kovů, polychlorovaných bifenylů a antimikrobních látek) jsou zhodnoceny potraviny u nás vyrobené i k nám dovezené (O. Sedláček). Publikaci zakončuje přehled právních norem a směrnic týkajících se zdravotní nezávadnosti potravin (J. Šindelářová).

K sepsání této publikace byl zvolen kolektiv našich vynikajících odborníků, kteří jsou kvalifikovanými a výraznými osobnostmi. To se projevilo i individuálním pojetím a v různé koncepci jednotlivých kapitol, což nepovažuji za závadu, ale naopak tento přístup umožňuje hlubší a mnohostranný pohled na problematiku. Jistým nedostatkem publikace je, že do ní nebyla zahrnuta kapitola o pitné vodě, která má pro zdravotní nezávadnost našich potravin prvořadý význam. V knize se dosti zřetelně nerozlišuje

mezi pesticidy a nadřazeným pojme agrochemikálie. Není také dosti zdůrazněno, že ke zdravotně závadným složkám potravin patří také četné přírodní složky a že často neexistuje přesná hranice mezi kontaminanty a přírodními toxickými složkami (např. u minerálních látek), takže některé kontaminanty ani nemůžeme nazývat cizorodými látkami.

Kniha je psána zřetelně a srozumitelně, takže bude vhodná nejen pro odborníky v ochraně životního prostředí, zdravotní prevenci a zemědělství, ale i pro potravinářské technology, pracovníky v kontrole a pro studenty. Je přístupná i pro pracovníky státní správy a další zájemce z řad občanů, kteří mají zájem o zdraví a výživu. Doufejme, že její úspěch bude podnětem pro vydání dalších studií z této závažné problematiky.

*Prof. ing. Jan P o k o r n ý , DrSc.*

### **Upozornění pro odběratele vědeckých časopisů ČAZV a SAPV**

Od roku 1994 bude zajišťovat distribuci vědeckých časopisů vydavatel -  
Ústav zemědělských a potravinářských informací Praha.

Věříme, že i v dalších letech zůstanete odběrateli  
našeho vědeckého časopisu, a proto Vás žádáme, abyste nám

**zaslali objednávku na předplatné nejpozději do 30. 11. 1993.**

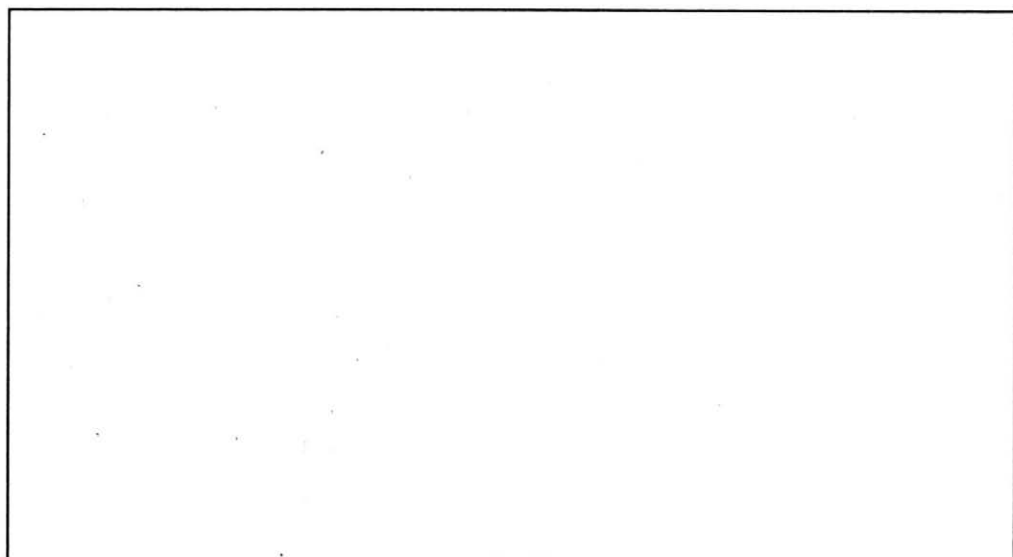
Předplatné na šest čísel časopisu Potravinářské vědy činí 192,- Kč.

**Objednávky zasílejte na adresu:**

Ústav zemědělských a potravinářských informací  
referát odbytu - pí. Tejčková  
Slezská 7  
120 56 Praha 2

## OBSAH – CONTENTS

V e l í š e k J., M í k o v á K., M a š á t o v á L.: Využití metod multivariační analýzy k hodnocení kvality bezinek – Use of multivariate methods for evaluating the quality of elderberries . . . . .	353
S u h a j M.: Stanovenie sacharínu v požívatínách metódou kapilárnej izotachofórey a derivačnej spektrofotometrie – Saccharin determination in foodstuffs by capillary isotachopheresis and derivative spectrophotometry . . . . .	363
K o p l í k R., N ě m c o v á Š.: Voltametrické stanovení kadmia, olova, mědi a zinku v potravinách – Determination of cadmium, lead, copper and zinc foodstuffs	371
S t a r u c h L., B á n S., H e r i b a n V.: Vplyv udiaceho preparátu (UTP-1) na rast štartovacích kultúr pre fermentované mäsové výrobky a na rast <i>Escherichia coli</i> – The effect of smoking preparation (UTP-1) on the growth of the starter cultures for fermented meat products and on the growth of <i>Escherichia coli</i> . . .	390
Š i m k o P., K n e ž o J.: Vplyv ohrevu na obsah benzo(a)pyrénu v údených mäsových výrobkoch – The effect of heating on the benzo(a)pyrene content in the smoked meat products . . . . .	391
K o v á č o v á M., P r í b e l a A., K o z á r o v á I.: Spôsob stability antokyanínových farbív a eliminácia nežiadúcich senzoričky aktívnych zložiek bazy chabzdovej – The way of stability of anthocyanin colorants and elimination of undesired sensorically active components of danewort . . . . .	401
T a k á c s o v á M., H o z o v á B., R a j n i a k o v á A., M i n a r o v i č o v á I.: Zmeny mastných kyselín lipidov vzoriek pri kombinovanej metóde konzervácie potravín s aplikáciou glycínu – Changes in the lipid fatty acids of the samples at use of a combined method of food preservation with the glycine application . . . . .	409
 <b>PŘEHLEDY – SURVEY</b>	
K o p e c k ý A.: Esenciální mastné kyseliny . . . . .	415
 <b>INFORMACE – INFORMATION</b>	
R u i t e r A.: High education if food chemistry . . . . .	423
 <b>RECENZE</b>	
P o k o r n ý J.: E. Davídková - J. Dostálová – Náhrada cukru jinými sladidly	438
P o k o r n ý J.: J. Šindelářová – Zdravotní nezávadnost potravin . . . . .	439



---

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.