

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

POTRAVINÁŘSKÉ VĚDY

FOOD SCIENCES

1

ROČNÍK 13
PRAHA 1995
CS ISSN 0862-8653

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

POTRAVINÁŘSKÉ VĚDY
FOOD SCIENCES

*An international journal published by the
Czech Academy of Agricultural Sciences
and with the promotion of the Ministry
of Agriculture of The Czech Republic*

Abstracts from the journal is comprised in Agrindex of FAO (AGRIS database), Food Science and Technology Abstracts, Dairy Science Abstracts, Chemical Abstracts, WLAS, TOXILINE PLUS and Czech Agricultural Bibliography.

Editorial board - Redakční rada

Head of the Editorial Board – Předseda

ing. Zeno Šimůnek, CSc.

Members of the Editorial Board – Členové redakční rady

ing. Miloslav Adam, CSc., ing. Luisa Benešová, ing. Jan Drbohav, CSc.,
prof. ing. Dušan Čurda, CSc., prof. ing. Jiří Davídek, DrSc., ing. Jiřina Houšová, CSc.,
prof. ing. Ivo Ingr, DrSc., ing. Milan Kováč, CSc., prof. ing. Jan Pokorný, DrSc.,
prof. ing. Alexander Príbela, DrSc., prof. ing. Mojmír Rychtera, CSc.,
ing. Olga Štiková, CSc., MUDr. Bohumil Turek, CSc.

Editor-in-chief – Vedoucí redaktorka

RNDr. Marcela Braunová

Aim and scope: The journal publishes original scientific papers, short communications, and selectively reviews, that means papers based on the study of technical literature and reviewing knowledge in the given field. Published papers are in Czech, Slovak or English.

Subscription information: Subscription orders can be entered only by calendar year and should be sent to the contact address.

Subscription prise for 1995 is 210 Kc, 48 USD (Europe) and 56 USD (overseas)

Periodicity: The journal is published six time a year.

Contact address: Slezská 7, 120 56 Prague 2, Czech Republic,
tel. 02/251 098; fax 02/257 090

CHEMOMETRIC INVESTIGATION OF MUSTARD SEED*

Jan VELÍŠEK, Renata MIKULCOVÁ, Kamila MÍKOVÁ, Bahru W. KASSAHUN,
Jiří LINK, Jiří DAVÍDEK

Institute of Chemical Technology – Department of Food Chemistry and Analysis,
Prague, Czech Republic

Abstract: Levels of 11 major glucosinolates and 2 other characteristics (thousand seed weight and colour) were determined in mustard seed (seed of *Sinapis alba*, *Brassica nigra* and *Brassica juncea*) and in the seed of similar *Brassica* plants (*Sinapis arvensis* and *Brassica napus*) available from local testing stations, local producers and suppliers. The aim of the work was to rationalize the mustard seed quality control using multivariate statistical methods discriminating the individual oilseed types. The obtained data of 19 oilseed samples were subjected to principal components analysis (PCA). PCA conducted with only 6 original variables (sinigrin, gluconapin, progoitrin and glucoibervirin level, thousand seed weight and colour) was able to separate clearly clusters of *S. alba* and *B. napus* seeds. A new PCA conducted with a reduced set of 4 variables (gluconapin, progoitrin and glucoibervirin level and thousand seed weight) readily distinguished between the seeds of *B. nigra*, *B. juncea* and *S. arvensis*.

mustard seed; glucosinolates; *Brassica nigra*; *Brassica juncea*; *Brassica napus*; *Sinapis alba*; *Sinapis arvensis*; principal components analysis (PCA)

The genus *Brassica* (Cruciferae, Brassicaceae family) consists of over 150 species, most of which are cultivated as oilseed crops or as vegetables. The oilseed denoted mustard may come from several species, generally belonging to or being closely related to the genus *Brassica* divided to subspecies, formae and varieties or cultivars. The mustard seed have been used as a spice, condiment (table mustard), medicine and also as a source of edible oil since ancient times (Shankaranarayana et al., 1972).

The composition of table mustard fluctuates considerably but in general all types contain mustard seed (15 to 35%), salt (1 to 5%), vinegar (1 to 5%) and water (50 to 80%) (Anonymous, 1989). The main types of mustard

* This work was supported in part by research grant no. 509/93/2483 from the Grant Agency of Czech Republic.

seed used is white seed, black seed or brown seed either alone or mixed. There exists some confusion regarding the identification and proper nomenclature of the genus *Brassica* members and the relations of some *Brassic*as are not yet completely clear. The white seed (white or yellow mustard) botanical name is *Sinapis alba* L. and synonyms used are *Brassica alba* (L.) Rabenh., *Leucosinapis alba* (L.) Spach, *Raphanus albus* (L.) Crantz, *B. hirta* Moench. The black seed (black or true mustard) botanical name is *B. nigra* (L.) Koch and synonyms are *S. nigra* L., *Melanosinapis communis* Schimp et Spenn., *M. nigra* (L.) Castalani. Both white and black seeds are diploid species. The brown mustard (oriental, leaf or Indian mustard) having the botanical name *B. juncea* (L.) Czern. et Cosson and synonyms *R. junceus* (L.) Crantz, *S. juncea* L. or *S. integrifolia* West is an amphidiploid plant, a hybrid variety derived from *B. nigra* and *B. campestris* L. Sarepta mustard (*B. besseri*ana Andr.) is a yellow variety (a yellow-seeded mutant) of the brown mustard. Char lock (*S. arvensis* L.) has been used for preparation of poor quality table mustard (Shankaranarayana et al., 1972; Hejný, Slavík, 1992).

The characteristic flavour of the white mustard seed is derived from the glucosinolate sinalbin, whereas the black seed and the brown seed owe their much sharper taste mainly to the glucosinolate sinigrin. Usually more than one glucosinolate is found in each of these three mustard seeds. During the mustard manufacture (there are several types of table mustard and the procedures by which they are made and type of mustard seed used differ considerably) the glucosinolates are hydrolyzed by the enzyme termed myrosinase (thioglucosidase or thioglucoside glucohydrolase, EC 3.2.3.1) to flavour-active isothiocyanates (mustard oils) and some other compounds. The biting taste and the characteristic pungency and odour of table mustard is mainly due to the presence of isothiocyanates, sinalbin in white mustard seed yields primarily non-volatile 4-hydroxybenzyl isothiocyanate, whereas sinigrin in black or brown mustard seed decomposes to volatile allyl isothiocyanate.

Sinalbin concentration in white mustard seed varies from 49.5 to 115.5 μmol per g (2.1–4.9%) (Haelvae et al., 1986). The total glucosinolate content of black mustard seed ranges widely (70–185 $\mu\text{mol/g}$, 2.5–16.62%). Sinigrin is the major glucosinolate with a portion of 90 to 100%, gluconapin level is 0 to 10.8%, glucobrassicinapin level is 0–0.3%, progoitrin level is 0–1.1% of the total contents (Gland et al., 1981). In brown mustard seed, three different

types of glucosinolate pattern were determined. The "sinigrin type" is similar to that of black mustard seed. In the second type, sinigrin appears with only 20% and gluconapin becomes the major glucosinolate amounting to about 80%. A third type contains sinigrin only in traces, gluconapin is the major glucosinolate (80%) and glucobrassicinapin and progoitrin are each present in about 10% of the total contents. Seeds from Europe and Northern America belong to the "sinigrin type", while those from Asia exhibit the second pattern.

The content of 4-hydroxybenzyl isothiocyanate in the autolyzed white mustard seeds ranges between 1.5-3.7%. The volatile oil obtained from *B. nigra* consists of allyl isothiocyanate (0.4-1.8%), which is the major compound, whereas the oil obtained from *B. juncea* consists of a mixture of allyl isothiocyanate (0.33-0.44%) and 3-butenyl isothiocyanate (0.27 to 0.36%) (Shankaranarayana et al., 1972). Requirements (ISO 1237) specified for mustard seed include 4-hydroxybenzyl isothiocyanate level higher than 2.3% in *S. alba*, allyl isothiocyanate level higher than 1.0% in *B. nigra* and higher than 0.7% in *B. juncea*.

Meeting food industry requirements for mustard seed and table mustard quality does require an analysis of the glucosinolate content. It is often extremely important to identify the type of mustard seed as black or brown seed glucosinolate composition as well as that of some other *Brassicaceae* used for table mustard manufacture is very similar but differences in their chemical composition (such as a higher amount of 3-butenyl isothiocyanate, the absence or low levels of mucilage in some seeds) result in poor flavour and poor consistency of the mustard paste (Shankaranarayana et al., 1972; Vangheesdaele, Fournier, 1980). For this purpose, the contents of the major glucosinolates were determined in the mustard seed available from local testing stations, local producers and suppliers. The aim of this work was to rationalize the mustard seed quality control using multivariate statistical methods which are able to distinguish the individual mustard seed types.

MATERIAL AND METHODS

Material

Total number of 19 oilseeds have been analyzed (Table I). The authentic samples of *S. alba*, *S. nigra* and *B. juncea* mustard seed came from testing

stations located in the Czech Republic. Apart from these authentic samples, *S. nigra*, *B. juncea* and *S. arvensis* mustard seed from the local market were supplied by Boneco a.s. Samples of *B. napus* seed were received from Setuza a.s.

Methods

Colour of light (white or yellow) seeds was arbitrarily assigned as being 0, that of dark (brown or black) seeds was assigned as being 1. The individual glucosinolates were determined as their corresponding pertrimethylsilylated desulfoglucosinolates (Mincinton et al., 1982) employing the gas-liquid chromatographic method described by Heaney and Fenwick (1980).

Statistical analysis

Statistical techniques employed were simple descriptive statistics and principal components analysis (PCA), which were performed on an IBM PC compatible computer using software purchased from SPSS/PS+, V3.1 (SPSS GmbH, München, Germany).

RESULTS AND DISCUSSION

The aim of the present research was to determine the content of the individual glucosinolates in mustard seed available on the market in the Czech Republic. This work was undertaken to evaluate which variables are relevant for mustard seed type identification and the corresponding table mustard quality. The individual and total glucosinolate level and two other variables (or attributes or characteristics being thousand seed weight and colour) of 19 oilseeds (samples, entities) analyzed are listed in Table II. These variables were chosen to describe the oilseeds under study. Apart from the main types of mustard seed (*S. alba*, *B. nigra* and *B. juncea*), seeds of *S. arvensis* and *B. napus* were analyzed for comparison.

The obtained 14 physico-chemical variables of 19 oilseed samples were subjected to PCA to reduce the complexity of these data and provide the possibility of visualizing and simply interpreting the achieved array of data. PCA showed that three principal components (PCs) were needed to describe the correlation structure. This three PCs solution accounted for 83% of the

I. Characterization of seeds analyzed

Sample no.	Botanical name	Supplied from	Country of origin
1. SAL1	<i>S. alba</i> (var. Zlata)	HOZ Olejniny, Hradec n. S.	Czech Republic
2. SAL2	<i>S. alba</i> (var. Asta)	HOZ Olejniny, Hradec n. S.	Czech Republic
3. SAL3	<i>S. alba</i> (var. Metex)	HOZ Olejniny, Hradec n. S.	Czech Republic
4. SAL4	<i>S. alba</i> (var. Ascot)	HOZ Olejniny, Hradec n. S.	Czech Republic
5. BNI1	<i>S. nigra</i> (BRSCHW22531)	Oseva, s.p., VÚO, Opava	Germany
6. BNI2	<i>S. nigra</i> (BRSCHW22533)	Oseva, s.p., VÚO, Opava	Germany
7. BNI3	<i>B. nigra</i>	Boneco, a.s., Benešov	Belgium
8. SAR1	<i>S. arvensis</i>	Boneco, a.s., Benešov	Bulgaria
9. BJU1	<i>B. juncea</i> (BRSCHW22540)	Oseva, s.p., VÚO, Opava	Germany
10. BJU2	<i>B. juncea</i> (BRSCHW22541)	Oseva, s.p., VÚO, Opava	Germany
11. BJU3	<i>B. juncea</i> (Trowse 820/A)	Oseva, s.p., VÚO, Opava	Great Britain
12. BJU4	<i>B. juncea</i>	Boneco, a.s., Benešov	Canada
13. BJU5	<i>B. juncea</i>	Boneco, a.s., Benešov	Canada
14. BJU6	<i>B. juncea</i>	Boneco, a.s., Benešov	Canada
15. BJS1	<i>S. j. Sarepta</i> (WNIIMK-13)	Oseva, s.p., VÚO, Opava	Russia
16. BJS2	<i>S. j. Sarepta</i>	Boneco, a.s., Benešov	Russia
17. BNA1	<i>B. napus</i>	Setuza, a.s., Ústí n. L.	Czech Republic
18. BNA2	<i>B. napus</i>	Setuza, a.s., Ústí n. L.	Czech Republic
19. BNA3	<i>B. napus</i>	Setuza, a.s., Ústí n. L.	Czech Republic

variance in the data used (the communalities of the variables ranged from 0.49 for gluconasturtiin to 0.97 for progoitrin) providing thus a useful insight into the inter-relationship existing within this set of analytical data. The component scores for all 19 samples were plotted on the first two PCs axes which accounted for 73% of the variance in the data set. It could be seen that whilst the majority of seeds of *B. nigra*, *B. juncea* and *S. arvensis* were clustered together quite closely, two clusters of *S. alba* and *B. napus* seeds were distributed away from this main group.

II. Glucosinolate content and other attributes of seeds analyzed

Seed no. (see Table I)	Glucosinolate in g per kg fresh weight *					
	SINI	NAPI	BRNA	PROG	NAPO	IBER
1. SAL1	0.0	0.0	0.0	0.8	0.0	0.0
2. SAL2	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.2
3. SAL3	0.0	0.0	0.0	1.3	0.0	0.1
4. SAL4	0.0	0.0	0.0	1.3	0.0	0.1
5. BNI1	61.2	0.1	0.0	0.1	0.0	0.1
6. BNI2	59.8	0.1	0.0	0.1	0.0	0.2
7. BNI3	24.5	0.1	0.0	0.1	0.0	0.3
8. SAR1	46.5	0.1	0.0	0.0	0.0	0.8
9. BJU1	46.2	0.2	0.0	0.1	0.0	0.4
10. BJU2	51.8	0.2	0.0	0.1	0.0	1.0
11. BJU3	60.1	0.2	0.0	0.1	0.0	0.3
12. BJU4	35.5	0.2	0.0	0.0	0.0	0.4
13. BJU5	30.2	0.1	0.0	0.0	0.0	0.5
14. BJU6	16.6	0.1	0.0	0.0	0.0	0.4
15. BJS1	55.1	0.6	0.0	0.2	0.0	0.6
16. BJS2	40.4	0.2	0.0	0.1	0.0	0.3
17. BNA1	0.0	0.9	0.2	5.0	0.3	0.2
18. BNA2	0.0	1.1	0.3	5.2	0.3	0.5
19. BNA3	0.0	0.3	0.1	2.8	0.2	0.3

* SINI = sinigrin, NAPI = gluconapin, BRNA = glucobrassicinapin, PROG = progoitrin, turtiin, SINA = sinalbin, BRAS = glucobrassicin, HBRAS = 4-hydroxyglucobrassicin,

Better separation of *B. nigra*, *B. juncea* and *S. arvensis* seeds was achieved when variables participating to a small extent in this model were deleted and a new PCA was made on the reduced data matrix consisting of only six variables. Table III shows component loading matrix and associated eigenvalues, communalities and variances for the six original variables solution. The PCs loadings of these six original variables and the corresponding PCs scores for all 19 oilseed samples were plotted on the first two principal

Table II continued

Glucosinolate in g per kg fresh weight *							
ERUC	NAST	SINA	BRAS	HBRAS	TOTAL	TSW	COLOUR
0.0	0.0	44.4	0.1	0.1	45.4	8.3	0
0.0	0.0	53.0	0.1	0.2	54.5	8.4	0
0.0	0.0	55.0	0.1	0.2	56.7	7.8	0
0.0	0.0	60.2	0.1	0.2	61.9	7.8	0
0.0	0.0	0.2	0.0	0.7	62.4	1.7	1
0.0	0.0	0.9	0.0	0.8	61.9	1.7	1
0.0	0.1	0.3	0.0	0.6	26.0	2.8	1
0.0	0.1	0.1	0.0	0.5	48.1	0.8	1
0.0	0.0	0.5	0.0	1.6	49.0	2.9	1
0.2	0.0	0.6	0.0	0.9	54.8	3.3	1
0.0	0.0	0.0	0.0	1.1	61.8	3.7	1
0.0	0.1	0.2	0.0	0.9	37.3	2.7	1
0.1	0.1	0.2	0.0	0.6	31.8	2.4	1
0.0	0.0	0.3	0.0	0.7	18.1	2.8	1
0.0	0.1	0.0	0.0	1.1	57.7	4.6	0
0.0	0.1	0.3	0.1	0.9	42.4	2.9	0
0.0	0.1	0.0	0.0	0.4	7.1	4.9	1
0.0	0.1	0.0	0.0	0.4	7.9	4.9	1
0.0	0.1	0.3	0.0	0.6	4.7	4.9	1

NAPO = gluconapoleiferin, IBER = glucoibervirin, ERUC = glucoerucin, NAST = gluconas
 TSW = thousand seed weight, COLOUR = arbitrarily assigned colour

axes which accounted for almost 78% (46.1% and 31.4%) of the total variance in the data set.

As a result, Fig. 1 is a very good representation. Variable TSW is the one with the largest variation over the samples, variable TSW and IBER or COLOUR are negatively correlated over the samples. When a sample is rated higher than the average for TSW, it is rated lower than the average for colour (the seed is of lighter colour) and glucoibervirin level. The same prevails for

III. Component loading matrix and associated eigenvalues, communalities and variances of all oilseeds

Original variables*	Component loadings						Communality
	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC5	
1. SINI	0.879	-0.139					0.792
2. NAPI	-0.182	0.893					0.831
3. PROG	-0.615	0.768					0.967
4. IBER	0.610	0.340					0.487
5. COLOUR	0.618	0.556					0.691
6. TSW	-0.912	-0.226					0.883
Eigenvalue	2.77	1.88	0.71	0.48	0.11	0.05	
Variance [%]	46.1	31.4	11.8	8.0	1.9	0.7	
Cumulative variance [%]	46.1	77.5	89.3	97.4	99.3	100.0	

* SINI = sinigrin, NAPI = gluconapin, PROG = progoitrin, IBER = glucoibervirin, COLOUR = arbitrarily assigned colour, TSW = thousand seed weight

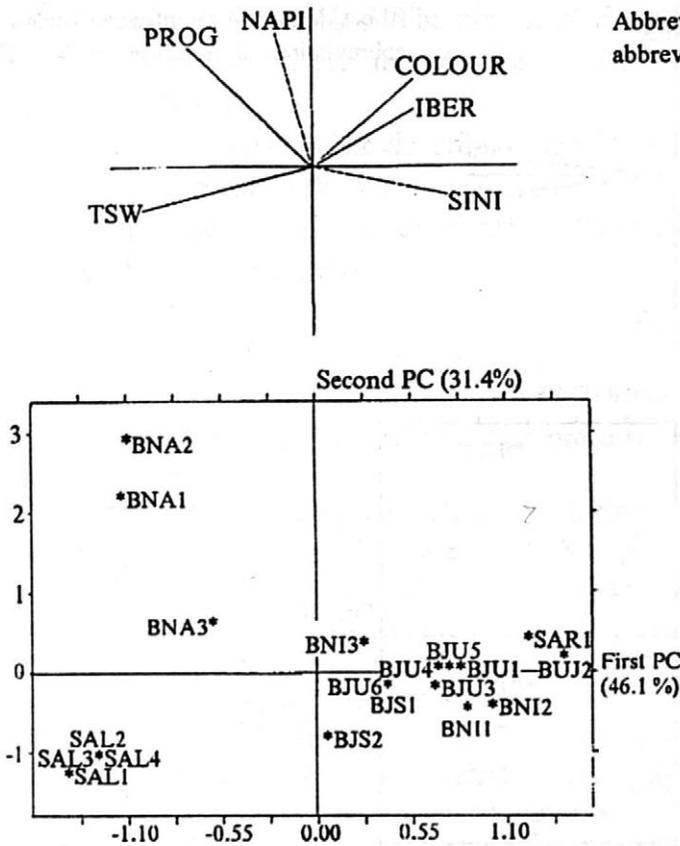
variables SINI and PROG. Variables NAPI and PROG on the one hand and IBER and COLOUR on the other are fairly positively correlated. The meaning of the first principal axis is given, on the right, mainly by variable SINI

IV. Results of PCA conducted with *B. nigra*, *B. juncea* and *S. arvensis* seeds

Original variables*	Component loadings				Communality
	PC1	PC2	PC3	PC4	
1. NAPI	0.919	-0.002			0.845
2. PROG	0.042	-0.877			0.771
3. IBER	0.051	0.875			0.769
4. TSW	0.916	0.012			0.839
Eigenvalue	1.69	1.53	0.48	0.30	
Variance [%]	42.2	38.3	11.9	7.5	
Cumulative variance [%]	42.2	80.6	92.5	100.0	

* NAPI = gluconapin, PROG = progoitrin, IBER = glucoibervirin, TSW = thousand seed weight

Abbreviations of samples see Table I,
abbreviations of variables see Table II



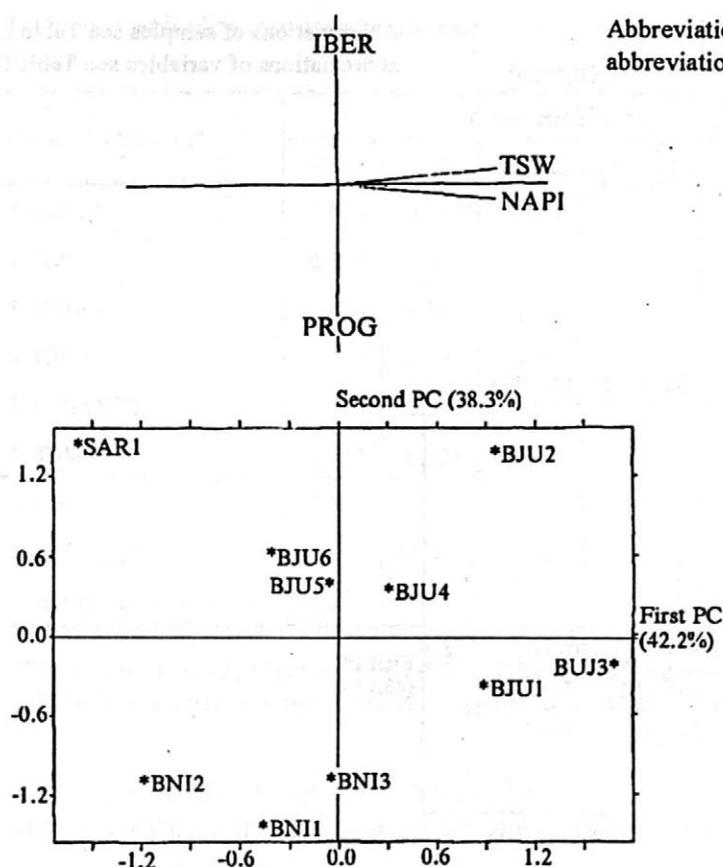
1. Result of PCA on data from 19 samples and 6 variables

and on the left, by variable TSW. The same prevails for the second principal axis and variable NAPI.

It can be clearly seen that seeds of *S. alba* and *B. napus* are located in separate clusters. Their relative positions may be interpreted by consideration of the PCs loadings of the original variables. The cluster of *S. alba* seeds is the most endowed in variable TSW and the least endowed in variables IBER and COLOUR. It has a rather high TSW value and rather low IBER and COLOUR values. The cluster of *B. napus* samples is the most endowed in variables NAPI and PROG and the least endowed in variable SINI. It has a rather low SINI level and rather high NAPI and PROG levels.

The seeds of *S. arvensis* and *B. juncea* Sarepta are somewhat separated from the cluster of seeds of *B. nigra*, *B. juncea* and *S. arvensis* due to their rather high content of SINI and IBER and also due to their rather darker colour. Unfortunately, the seeds of *B. nigra*, *B. juncea*, *B. juncea* Sarepta

Abbreviations of samples see Table I,
abbreviations of variables see Table II



2. Result of PCA on data from 10 samples and 4 variables

and *S. arvensis* could not be clearly separated using the above mentioned six variables. Therefore, a new PCA has been conducted employing a smaller set consisting of only 10 samples of *B. nigra*, *B. juncea* and *S. arvensis* seeds. The samples of *B. juncea* Sarepta seeds were not included as they can be readily distinguished from the dark seeds of *B. juncea* due to their yellow colour. The best results were achieved using a reduced set of variables consisting of only four variables (NAPI, PROG, IBER and TSW). Table IV shows the results of PCA made on these four variables (Varimax rotation). As it can be seen (Fig. 2), the first PC, on the right, describes mainly NAPI and TSW. The second PC represents, in the upward direction, mainly IBER and in the downward direction mainly PROG. The seeds of *B. nigra*, *B. juncea* and *S. arvensis* are now distributed in three separate clusters. Their relative positions may be interpreted as follows. The cluster of *B. nigra* seeds is

the most endowed in PROG. The cluster of *B. juncea* seeds is the most endowed in NAPI and TSW and the cluster of *S. arvensis* seeds is the most endowed in IBER.

As a result, the use of the described models and procedures based on the individual level of certain glucosinolates, easily assayed thousand seed weight and colour of the seeds clearly distinguishes between all mustard seeds available on the market.

References

- ANONYMOUS: Mustard manufacture. New processes and machines. Food Market Technol., 1989: 19-22.
- GLAND, A. – RÖBELLEN, G. – THIES, W.: Variation of alkenyl glucosinolates in seeds of *Brassica* species. Z. Pflanzenzücht., 87, 1981, 96-110.
- HAELVAE, S. – HIRVI, T. – MAEKINEN, S. – HONKANEN, E.: Yield and glucosinolates in mustard seeds and volatile oils in caraway seeds and coriander fruit. I. Yield and glucosinolate contents of mustard (*Sinapis* sp., *Brassica* sp.) seeds. J. Agric. Sci. Finland, 58: 1986, 157-162.
- HEANEY, R. K. – FENWICK, G. R.: The analysis of glucosinolate in *Brassica* species using gas chromatography. Direct determination of the thiocyanate ion precursors, glucobrassicin and neoglucobrassicin. J. Sci. Food Agr., 31, 1980: 593-599.
- HEJNÝ, S. – SLAVÍK, B. (Eds.): Květena ČR. 3. díl. Praha, ČAV, Academia 1992.
- MINCHINTON, I. – SANG, J. – BURKE, D. – TRUSCOTT, R. J. W.: Separation of desulfoglucosinolates by reversed-phase high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr., 247, 1982: 141-148.
- SHANKARANARAYANA, M. L. – RAGHAVAN, B. – NATARAJAN, C. P.: Mustard – varieties, chemistry and analysis. Lebensm. Wiss. u. Technol., 5, 1972: 191-197.
- VANGHEESDAELE, G. – FOURNIER, N.: Chemical composition of *Brassica juncea* used for making Dijon mustard. Rev. Fr. Corps Gras, 27, 1980: 15-22.
- ISO 1237. International Organisation for Standardization. International Standard, 1981.

Received December 12, 1994

Chemometrické hodnocení hořčičných semen

U souboru 19 vzorků semen hořčice bílé, černé, hnědé a sarepské (*Sinapis alba*, *Brassica nigra*, *B. juncea*) a u semen příbuzných olejnin (hořčice

rovní – *S. arvensis* a řepka olejka – *B. napus*) byl stanoven metodou plynové chromatografie obsah hlavních glukosinolátů (sinigrin, gluconapin, gluco-brassicapin, progoitrin, gluconapoleiferin, glucoiber-virin, glucoerucin, gluconasturtiin, sinalbin, glucobrassicin a 4-hydroxyglucobrassicin). Dále byla určena hmotnost tisíce semen a arbitrážně jejich zbarvení. Cílem práce bylo využít takto získané charakteristiky semen k jejich rozlišení pomocí metod multivariační analýzy. Především se jednalo o možnost rozlišení semen hořčice černé (*B. nigra*) a hnědé (*B. juncea*) a hořčice rovní (*S. arvensis*), které jsou na trhu často vzájemně zaměňovány. Metodou analýzy hlavních komponent (PCA) za použití pouze šesti proměnných (obsah sinigrinu, gluconapinu, progoitrinu, glucoibervirinu a hmotnosti tisíce semen) bylo možné velmi dobře rozlišit, resp. identifikovat semena hořčice bílé (*S. alba*) a semena řepky olejky (*B. napus*). Za použití pouze čtyř proměnných (gluconapin, progoitrin, glucoibervirin a hmotnost tisíce semen) bylo možné velmi dobře rozlišit semena hořčice černé (*B. nigra*), hnědé (*B. juncea*) i semena hořčice rovní (*S. arvensis*).

hořčice; glukosinoláty; *Brassica nigra*; *Brassica juncea*; *Brassica napus*; *Sinapis alba*; *Sinapis arvensis*; analýza hlavních komponent; PCA

Contact Address:

Prof. ing. Jan Velíšek, DrSc., Vysoká škola chemicko-technologická,
Ústav chemie a analýzy potravin, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika,
tel.: 02/2435 3177, fax: 02/311 99 90

THE CHANGE OF CABBAGE (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) GLUCOSINOLATE CONTENT DURING STORAGE*

Bahru W. KASSAHUN, Jan VELÍŠEK, Jiří DAVÍDEK, Jana HAJŠLOVÁ

*Institute of Chemical Technology – Department of Food Chemistry and Analysis,
Prague, Czech Republic*

Abstract: The effect of storage on cabbage glucosinolate content was followed using gas-liquid chromatography. The initial individual and total glucosinolate contents were determined in three varieties of head cabbages, Aneto F1 (summer early variety), Dobrovodské polopozdní (summer semilate variety) and Pourovo červené (summer late variety, red cabbage). All three varieties of cabbage differed in their total glucosinolate content. These results were compared with those obtained by analysing the above samples during the storage. Storage brought about a decrease in total glucosinolate content in each cultivar, about 70% in Aneto F1 (stored for 5 weeks), 85% in Dobrovodské polopozdní (stored for 8 weeks) and 80% in Pourovo červené (stored for 10 weeks). The results also indicated the length of the storage life of the examined cabbage varieties under the conditions of the experiment used.

cabbage; glucosinolates; changes; storage

Glucosinolates represent one of the well-defined secondary plant metabolites distributed in the *Brassica* plants (Heaney, Fenwick, 1987). They form a group of naturally occurring anions with a partial uniformity in structure-differing mainly in the character of the side chain (Fig. 1). Glucosinolates are present in the intact plant together with enzymes, myrosinases (thioglucoside glucohydrolase, EC 3.2.3.1), which hydrolyse their thioester bond on the disruption of the plant tissue in the presence of water (Bjerggaard et al., 1994). Further rearrangement of the enzymatically formed thiohydroxamate-O-sulfonate results in the emergence of different physiologically active compounds which attract the attention of food chemists, toxicologists and nutritionists to their resultant effect on human and animal health. Depending on the reaction environment, pH, the presence of some

* This work was supported in part by research grant no. 509/93/2483 from the Grant Agency of Czech Republic.

cations ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$), ascorbic acid, the structure of the side chain, etc., the hydrolysis products can be isothiocyanates, nitriles, oxazolidine-2-thiones, and other compounds (Uda et al., 1986; Jen, Wei, 1993; Fenwick et al., 1983). It has been proven that isothiocyanates formed from certain aliphatic glucosinolates showed mutagenicity, antimicrobial activity (2-propenyl isothiocyanate from sinigrin and others), goiterogenicity (5-vinyl-oxazolidine-2-thione from progoitrin and thiocyanate ion from indole and other glucosinolates) (Duncan, Milne, 1992; McDanell et al., 1987). Degradation of the indole glucosinolates and their reaction products such as indole-3-methanol and ascorbigen (reaction product of indole-3-methanol with ascorbic acid) were found to be engaged in the induction of enzymes which metabolise xenobiotics (McDanell et al., 1989; Preobrazhenskaya et al., 1993; Williamson, 1994). Recent reports have documented the advantage of consuming *Brassica* vegetables (Brussels sprout and cabbage) by humans for protecting against breast and colon cancer and for other benefits (Verhagen, Feron, 1994; Yanai et al., 1994).

The properties of individual glucosinolates, given by their side chain structure and the multiplicity of their degradation products caused by enzymatic hydrolysis were broadly studied under various processing conditions (Fenwick, Curtis, 1980; McGregor et al., 1983; Kassahun et al., 1994; Slominski, Campbell, 1989; Vos et al., 1988). But there is still little information about the influence of storage either on total or individual glucosinolate content of *Brassica* vegetables.

Cabbage is one of the most frequently consumed vegetables of the genus *Brassica*, either as a part of the main diet (cabbage with pork and dumplings) or as a complement of usual meals (salads). It often takes a long time before it reaches the consumer from the producer. Therefore, we found it appropriate to examine the potential changes in glucosinolate content of cabbage under storage.

MATERIAL AND METHODS

Material

Freshly harvested three varieties of cabbage, Aneto F1 (summer early variety), Dobrovodské polopozdní (summer semilate variety) and Pourovo červené (summer late variety, red cabbage) were supplied by the Central Seed Breeding Station, Dobřichovice, Czech Republic.

Chemicals, Reagents and Solutions

Potassium salt of 2-propenyl glucosinolate (sinigrin), gluconapin (2-butenyl glucosinolate, potassium salt), glucotropaeolin (benzyl glucosinolate, tetramethyl ammonium salt) and glucosinalbin (p-hydroxybenzyl glucosinolate, tetramethyl ammonium salt) were kindly supplied by G. R. Fenwick, ARC, Food Research Institute, Norwich, UK. Other chemicals and reagents were described elsewhere (Kassahun et al., 1994).

Sample preparation

The initial content of glucosinolates in the fresh material was determined as follows: representative samples were taken by boring each head of cabbage from opposite sides with a steel tube (bore diameter 15 mm) and after mixing and quartering, the slices amounting 20 g were weighed and analysed. Three heads of each cultivar having medium size were used for analysis. The effect of storage was followed by storing the above samples at 3 to 6 °C (4.5 ± 1.5 °C). Sampling and analysis were made as in the case of the fresh material by taking samples every week from Aneto F1 and every two weeks from Dobrovodské polopozdní and Pourovo červené. Detailed procedure was described elsewhere (Kassahun et al., 1994).

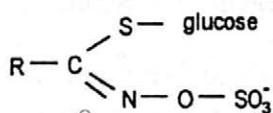
Apparatus

A Hewlett-Packard 5890A gas chromatograph was equipped with FID and a 25 m x 0.25 mm fused silica capillary column with SE-54 (film thickness 0.25 µm). The column temperature was programmed from 200 to 285 °C with an increase of 4 °C/min.

RESULTS AND DISCUSSION

Glucosinolates in the analysed cabbage samples were identified using GC/MS and by comparison of the obtained chromatograms with chromatograms of standards analysed under the same conditions (Kassahun et al., 1994; Christensen et al., 1982). Twelve glucosinolates, found in the tested cabbage samples, were quantified (Fig. 1). Table I to III give the content of glucosinolates in each cultivar.

1. General structure of glucosinolates (GLs)

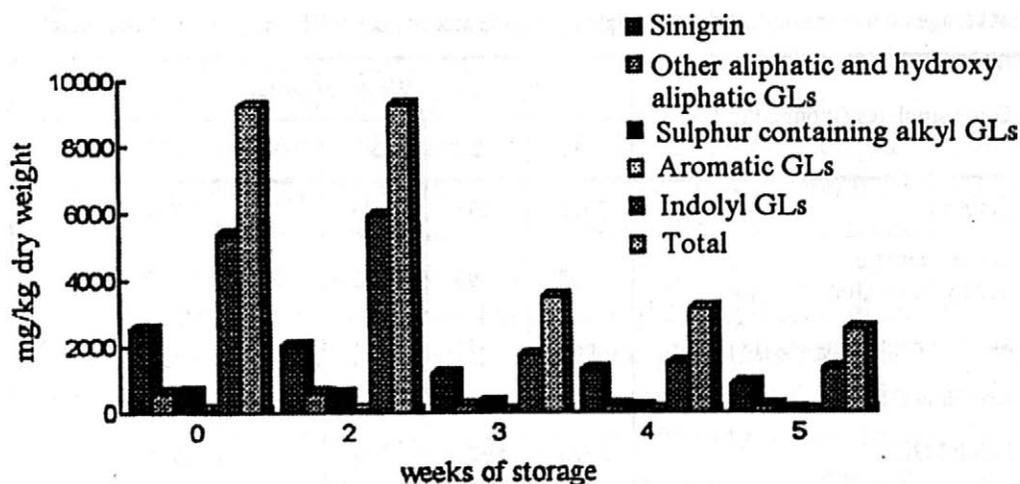


R	Systematic name	Trivial name
Alkenyl and hydroxy alkenyl aliphatic GLs	2-propenyl GLs	sinigrin
	3-butenyl GLs	gluconapin
	4-pentenyl GLs	glucobrassicinapin
	2-hydroxy-3-butenyl GLs	progoitrin
	2-hydroxy-4-pentenyl GLs	gluconapoleiferin
Sulphur containing alkyl GLs	methylthio-3-propyl GLs	glucoibervirin
	methylthio-4-butyl GLs	glucoerucin
Aromatic GLs	2-phenethyl GLs	gluconasturtiin
Indolyl GLs	3-indolylmethyl GLs	glucobrassicin
	1-methoxy-3-indolylmethyl GLs	neoglucobrassicin
	4-hydroxy-3-indolylmethyl GLs	
	4-methoxy-3-indolylmethyl GLs	

The highest total glucosinolate content was found in Aneto F1, Dobrovodské polopozdní had the medium and Pourovo červené the lowest level of glucosinolate.

Aneto F1 is rich in glucobrassicin and sinigrin. These two glucosinolates represent about 40% and 30% of the initial total content, respectively (Table I). It also contains lower amount of gluconasturtiin than the rest of the cultivars (about 1% of the total content).

During storage, the total content of glucosinolates in Aneto F1 did not change for the first two weeks (Table I, Fig. 2). Three weeks later the level fell to about 40% of the initial value. The change in the third week can be mainly due to a marked decrease in the content of sulphur-containing glucosinolates (glucoibervirin, glucoerucin). Storage for 5 weeks caused a decrease in the initial level by about 70%.



2. Changes of glucosinolate content in stored Aneto F1

Sinigrin, one of the most abundant glucosinolates in cabbage, showed a gradual change in content during the storage period (Table I, Fig. 2). After four weeks the amount obtained was higher than that of the third week (unlike Dobrovodské polopozdní and Pourovo červené). This might have been caused by the nonuniform distribution of this glucosinolate in the same plant parts.

The decrease in aliphatic glucosinolate content (Table I, Fig. 2) shows a similar trend like changes in the total glucosinolate content. These compounds seem to be stable within the first two weeks, then a sharp decrease from the 2nd to the 3rd week and a very small or an unaccountable loss in the last two weeks (4th and 5th) occurred.

The content of sulphur containing alkyl glucosinolates was decreasing slowly until the 2nd week. Greater losses had occurred during the last three weeks. More than 90% of their initial content was lost after 5 weeks of storage.

Although gluconasturtiin is one of the minor glucosinolates of cabbage, no statement can be made from the results obtained.

The quantity of indole glucosinolates (glucobrassicins) found in the fresh material was lower than that obtained in the second week of storage. The case probably is that these compounds migrated (during storage) to or around the injured or wounded parts of the cabbage as found by B o d n a r y k (1992). Higher loss occurred in the content of neoglucobrassicin. Its initial

I. Average concentration of glucosinolates (GLs) in stored Aneto F1 (mg per kg of dry weight)

Glucosinolates (grouped in Fig. 1)	Weeks of storage					
	0	2	3	4	5	SD
Sinigrin	2528	2038	1179	1281	857	0.11
Other aliphatic and hydroxy aliphatic GLs	602	606	212	191	190	0.12
Sulphur containing alkyl GLs	638	591	313	125	67	0.17
Aromatic GLs	78	94	24	38	27	0.80
Indolyl GLs	5370	5921	1739	1484	1306	0.11
Total	9216	9250	3467	3119	2489	0.26

SD = standard deviation for 5 duplicate analyses

content represented about 30% of the total indole glucosinolates and decreased to 2% in the fourth week. Its content was reduced to zero in the last week of storage. Glucobrassicin, found to be a major glucosinolate in Aneto F1, represented about 60% of the total indolyl initial quantity in the 1st and 2nd, 75% in the 3rd, 79% in the 4th and about 86% in 5th week of storage. The increment of this ratio (from 60 to 86%) may be a result of the complete loss of neoglucobrassicin. The decrease in glucobrassicin content was about 60% in the 3rd, 65% in the 4th and 70% in the 5th week of storage (related to its content in the fresh material). The reduction in the 4-hydroxyglucobrassicin and 4-methoxyglucobrassicin content was relatively low, about 50% in the last storage week.

In Dobrovodské polopozdní the decrease in total glucosinolate content started within the first two weeks of storage and after 8 weeks 85% of the initial content was lost (Table II, Fig. 3). Sinigrin and glucobrassicin were the major glucosinolates representing 50 and 20% in the fresh material, respectively. In the stored material, greater loss of sinigrin occurred within the last two weeks of storage. Its content was reduced to about 9% of sinigrin initial content in the fresh material.

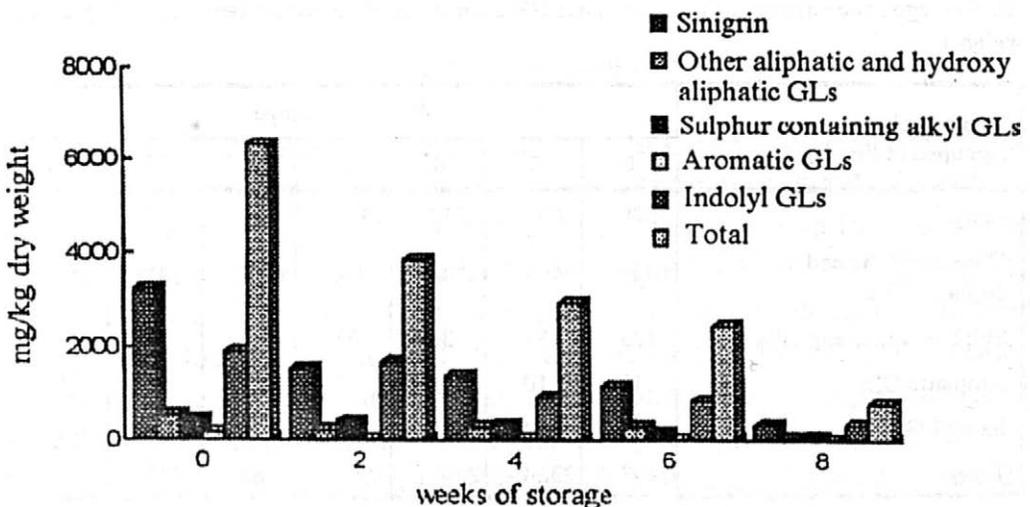
The measured value of the aliphatic glucosinolates in the fresh material was about 9% of the total, of which gluconapin and progoitrin were the major ones (8 weeks of storage reduced 85% of their original value).

The total content of the sulphur containing glucosinolates decreased in the same manner as in the case of Aneto F1 except that the change in the content of these compounds (in Dobrovodské polopozdní) was gradual.

Dobrovodské polopozdní contains a little higher amount of gluconasturtiin than Aneto F1, but no reproducible results of this compound were obtained during the analysis of the stored sample. So, the explanation given above for it in the case of Aneto F1 can apply here too.

The glucobrassicins total content is 30% of the initial total glucosinolate content in this cultivar. The most abundant was glucobrassicin and the least 4-hydroxyglucobrassicin. The glucobrassicin content was 60% of the initial total indole glucosinolate content and reached 80% in two, 65% in four, 75% in six and eight weeks stored material. The variation of this percentage also seems to be contributed by higher losses in the neoglucobrassicin content that represented 17% of the initial total indolyl content and was reduced to zero after 8 weeks of storage. The 4-methoxyglucobrassicin content was about 15% of the total indolyls in the fresh material which was reduced to 2% in the last week of storage.

The red cabbage Pourovo červené contains 33% sinigrin, 28% progoitrin and 23% gluconapin at the beginning of storage. The total glucosinolate content of this cabbage is the lowest from the tested cultivars (about 30% compared to Aneto F1 and 40% to Dobrovodské polopozdní total glucosinolate content). Unlike the other two tested cultivars, the content of progoitrin (Table III, Fig. 4) and gluconapin is higher and glucobrassicinapin and neoglu-



3. Changes of glucosinolate content in stored Dobrovodské polopozdní

II. Average concentration of glucosinolates (GLs) in stored Dobrovodské polopozdní (mg per kg of dry weight)

Glucosinolates (grouped in Fig.1)	Weeks of storage					
	0	2	4	6	8	SD
Sinigrin	3233	1523	1385	1147	301	0.11
Other aliphatic and hydroxy aliphatic GLs	542	222	286	294	58	0.12
Sulphur containing alkyl GLs	446	396	323	154	74	0.17
Aromatic GLs	164	28	40	22	10	0.80
Indolyl GLs	1899	1669	911	833	344	0.11
Total	6284	3838	2945	2450	787	0.26

SD = standard deviation for 5 duplicate analyses

cobrassicin are present in traces. The decrease in total glucosinolate content was very slow and more extended than in Aneto F1 and Dobrovodské polopozdní; ten weeks of storage decreased the initial total content by 80%.

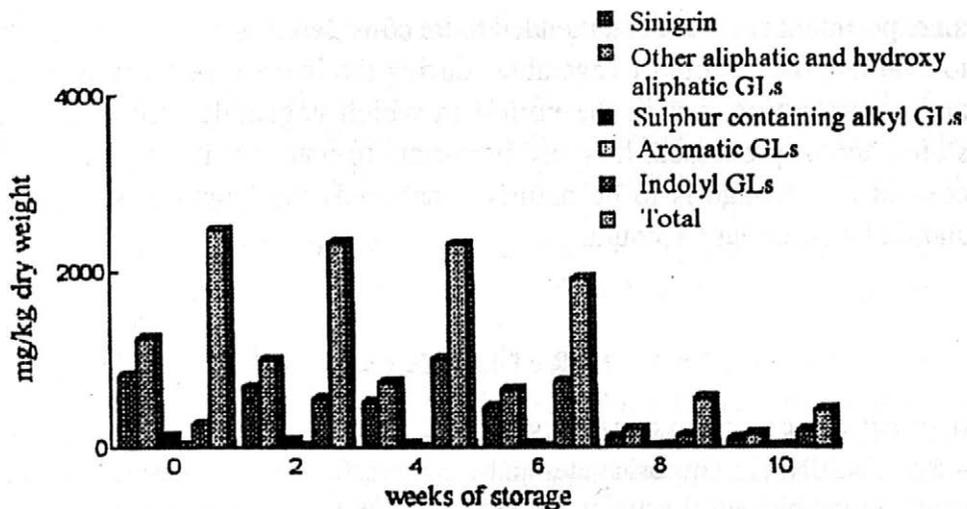
Sinigrin content was decreased by 90% after 10 weeks of storage.

In the content of aliphatic glucosinolates, gluconapin and progoitrin represent about 44 and 54%, respectively. Others, like glucobrassicinapin and gluconapoleiferin represent less than 0.5% each (related to the total content

III. Average concentration of glucosinolates (GLs) in stored Pourovo červené (mg per kg of dry weight)

Glucosinolates (grouped in Fig. I.)	Weeks of storage						
	0	2	4	6	8	10	SD
Sinigrin	820	687	512	460	104	84	0.11
Other aliphatic and hydroxy aliphatic GLs	1248	991	746	658	211	147	0.12
Sulphur containing GLs	123	81	36	33	2	2	0.17
Aromatic GLs	19	10	1	3	11	8	0.80
Indolyl GLs	263	554	1012	753	135	184	0.11
Total	2473	2324	2307	1907	563	425	0.26

SD = standard deviation for 5 duplicate analyses



4. Changes of glucosinolate content in stored Pourovo červené

of aliphatic glucosinolates in Pourovo červené, in which gluconapin and progoitrin represent about 50% of the total glucosinolate content).

The indolyls content representing 20% of the total glucosinolate content in the fresh material increased to about 30% within the 2nd to the 4th week of the storage period, whereas in the other two cultivars this happened in the 2nd week of storage. It may probably be because of the extended storage life of the Pourovo červené.

The decrease in the content of other groups of glucosinolates in Pourovo červené shows a similar trend like corresponding glucosinolate groups in Aneto F1 and Dobrovodské polopozdní.

CONCLUSION

Analysis of samples of three cabbage varieties stored at 3–6 °C for 5–10 weeks showed a marked decrease in total glucosinolate content. Most of the cabbage glucosinolate content was found to start decreasing in or after one week of storage. The results obtained also revealed that the seasonal variety of each cultivar has a significant influence either on enhancing or retarding the loss in glucosinolate content. Thus the decrease in glucosinolate content of cabbage seems to be proportional to its storage life – a rapid change in early and a gradual one in late varieties. This phenomenon may also be true of other compounds contained in cabbage. But since glucosinolates are typical chemotaxonomical variables of the *Brassica* genera, the results of such

an experiment can be recommended to be considered as one of the indicators to evaluate the quality of vegetables during the interval between harvesting and consumption; i.e. in the period in which vegetables are transported, stored and/or processed. It is also important to note that if the glucosinolate content of cabbage is to be natural (unaltered) the length of storage time should be taken into account.

References

- BJERGEGAARD, C. – MICHAELSON, S. – LI, P. W. – MØLLER, P. – OTTE, J. – SØRENSEN, H.: Glucosinolates and their transformation products. Compounds with a broad biological activity. In: Proc. Int. Euro Food Tox IV Conf. Bioactive Substances in Food of Plant Origin, Vol. 1, Poland, Olsztyn 1994: 1–15.
- BODNARYK, R. K.: Effect of wounding on glucosinolates in the cotyledons of oil-seed rape and mustard. *Phytochemistry*, 31, 1992: 2671–2677.
- CHRISTENSEN, B. W. – KJAER, A. – MADSEN, J. O. – OLSEN, C. E. – OLSEN, O. – SØRENSEN, H.: Mass spectrometric characteristics of some pertrimethylsilyl desulfoglucosinolates. *Tetrahedron*, 38, 1982: 353–357.
- DUNCAN, A. J. – MILNE, A. J.: Rumen microbial degradation of allyl cyanide as a possible explanation for the tolerance of sheep to *Brassica* derived glucosinolates. *J. Sci. Food Agr.*, 58, 1992: 15–19.
- FENWICK, G. R. – CURTIS, R. F.: Rapeseed meal and its use in poultry diets. A review. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 5, 1980: 255–298.
- FENWICK, G. R. – HEANEY, R. K. – MULLIN, W. J.: Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. *CRC Crit. Rev., Food Sci. Nutr.*, 18, 1983: 123–201.
- HEANEY, R. K. – FENWICK, G. R.: Identifying toxins and their effects: Glucosinolates. In: WATSON, D. H. – HORWOOD, E. (Eds.): *Natural Toxicants in Food, Progress and Prospects*. Chichester, UK 1987: 229.
- JEN, G-C. – WEI, Q-K.: Myrosinase activity and total glucosinolate content of cruciferous vegetables and some properties of cabbage myrosinase in Taiwan. *J. Sci. Food Agr.*, 61, 1993: 471 – 475.
- KASSAHUN, B. W. – VELÍŠEK, J. – DA VÍDEK, J.: Changes of glucosinolate content in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) during storage and processing. In: Proc. Int. Euro Food Tox IV Conf. Bioactive Substances in Food of Plant Origin. Vol. 1, Poland, Olsztyn 1994: 32–35.
- McDANELL, R. – McLEAN, A. E. M. – HANLEY, A. B. – HEANEY, R. K. – FENWICK, G. R.: Differential induction of mixed function oxidase (MFO) activity in rat liver and intestine by diets containing processed cabbage: correlation with

cabbage levels of glucosinolates and glucosinolate hydrolysis products. *Food Chem. Toxicol.*, 25, 1987: 363–368.

McDANELL, R. – McLEAN, A. E. M. – HANLEY, A. B. – HEANEY, R. K. – FENWICK, G. R.: The effect of feeding *Brassica* vegetables and intact glucosinolates on mixed function oxidase activity in the liver and intestines of rats. *Food Chem. Toxicol.*, 27, 1989: 289–293.

McGREGOR, D. I. – MULLIN, W. J. – FENWICK, G. R.: Analytical methodology for determining glucosinolates composition and content. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, 66, 1983: 825–849.

PREOBRAZHENSAYA, M. N. – KORLEV, A. M. – LAZHKO, E. I. – ALEKSANDROVA, L. G. – BERGMAN, J. – LINDSTRØM, J.-O.: Ascorbigen as a precursor of 5,11-dihydroindolo-3,2-b-carbazole. *Food Chem.*, 48, 1993: 58–62.

SLOMINSKI, B. A. – CAMPBELL, L. D.: Formation of indole glucosinolate breakdown products in autolysed, steamed and cooked *Brassica* vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 37, 1989: 1297–1302.

UDA, Y. – KURATA, T. – ARAKAWA, N.: Effects of pH and the ferrous ion on the degradation of glucosinolates by myrosinase. *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1986: 2735–2740.

VERHAGEN, H. – FERON, V. J.: Cancer prevention by natural food constituents. The lessons of toxicology transposed to antigenotoxicity and anticarcinogenicity. In: *Proc. Int. Euro Food Tox IV Conf. Bioactive Substances in Food of Plant Origin*. Vol. 2, Poland, Olsztyn 1994: 463–478.

VOS, R. H., de – BLIJLEVEN, W. G. H.: The effect of processing conditions on glucosinolate in cruciferous vegetables. *Z. Lebensm.-Untersuch. Fors.*, 187, 1988: 525–529.

WILLIAMSON, G.: Effect of food components on phase I (activating), phase II (conjugating) and antioxidant enzymes. In: *Proc. Int. Euro Food Tox IV Con. Bioactive Substances in Food of Plant Origin*. Vol. 2., Poland, Olsztyn 1994: 360–370.

YANAI, S. – BRADLOW, H. L. – WESTIN, J. – RICHTER, E. D.: Consumption of cruciferous vegetables. Probable protection against breast cancer. In: *Proc. Int. Euro Food Tox IV Conf. Bioactive Substances in Food of Plant Origin*. Vol. 2, Poland, Olsztyn 1994: 480–83.

Received 2. 12. 1994

Změny obsahu glukosinolátů zelí (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) při skladování

Metodou plynové chromatografie byl sledován vliv skladování na obsah glukosinolátů zelí. Původní celkový obsah i obsah jednotlivých glukosinolátů byl stanoven ve třech odrůdách zelí – Aneto F1 (letní odrůda), Dobrovodské polopozdní (krouhá-

renská odrůda) a Pourovo červené (odrůda určená ke skladování). Všechny tři odrůdy se lišily svými počátečními hodnotami obsahu glukosinolátů. Obsah glukosinolátů zjištěný během skladování byl porovnán s jejich původním obsahem. Při skladování došlo ke snížení celkového obsahu glukosinolátů ve všech třech odrůdách. Celkový obsah glukosinolátů u odrůdy Aneto F1 se snížil přibližně o 70 % (po pěti týdnech skladování) a asi o 80 % u odrůd Dobrovodské polopozdní (po osmi týdnech skladování) a Pourovo červené (po 10 týdnech skladování).

glukosinoláty zeli; změny; skladování

Contact Address:

Prof. ing. Jan Velíšek, DrSc., Vysoká škola chemicko-technologická,
Ústav chemie a analýzy potravin, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká Republika,
tel: 02/2435 3177, fax: 02/31199 90

INTERESTERIFIKÁCIA TUKOVÝCH ZMESÍ S ALKALICKÝMI KATALYZÁTORMI

Interesterification of Fat Blends with Alkali Catalysts

Silvia HURTOVÁ, Štefan SCHMIDT, Jaroslav ZEMANOVIČ, Stanislav SEKRETÁR

*Faculty of Chemical Technology of the Slovak Technical University,
Bratislava, Slovak Republic*

Abstract: Randomization of fat blends, formulated by mixing vegetable oil with fully hydrogenated vegetable oil at various ratios, using alkali catalysts was investigated. The activity of a water solution of NaOH in the randomization reaction was tested and compared with a methanolic solution of MeONa. The relationship between the structure and physical properties was examined. The randomization was followed by changes in the triacylglycerol group composition of the initial blends and their corresponding randomized products. These changes in the triacylglycerol group composition of the initial blends and their corresponding randomized products were analyzed by RP-HPLC. The randomization products analyzed by RP-HPLC were compared with the triacylglycerol group composition calculated according to random distribution. TAG group compositions of the randomized products were similar to the TAG group compositions which were calculated according to random distribution. The altered triacylglycerol composition of the randomized fat blends was also reflected in the melting point and the solid fat content of the fat blends. A decrease in the melting point of each examined fat blend and a decrease in the solid fat content were detected after the randomization reaction. The randomization of the fat blends of VO:FHVO with NaOH as a water solution and by MeONa as a methanolic solution are compared. The fat blends randomized by NaOH and MeONa have the similar solid fat content and also TAG group compositions. The lower melting of fat blends interesterified by methanolic MeONa is very likely to be caused by the presence of the byproducts, such as fatty acid methyl esters. The high acid values using a water solution of NaOH were caused by greater hydrolysis of triacylglycerols. The randomization using the water solution of NaOH can be used to produce fat blends suitable for margarine, for example.

randomization; alkali catalysts; NaOH; MeONa; fat blends; RP-HPLC; GLC; p-NMR

Abstrakt: V práci bol sledovaný proces neriadenej interesterifikácie (randomizácie) tukových zmesí rastlinného oleja s totálne stuženým rastlinným olejom za použitia bázičkých katalyzátorov s cieľom prípravy tukov s požadovanými fyzikálnymi a nutritívnymi vlastnosťami. Overovala sa katalytická účinnosť vodného roztoku hydroxidu sodného v porovnaní s bežne používaným metanolíckym roztokom metoxidu sodného. Pre sledovanie procesu interesterifikácie tukových zmesí bola aplikovaná metóda HPLC pre analýzu zmien v štruktúre ich triacylglycerolov. Boli zaznamenané aj zmeny v chemických a fyzikálnych parametroch pôvodných a randomizovaných zmesí (číslo kyslosti, obsah mydla, teplota topenia) a tiež určité rozdiely pri použití katalyzátora metanolíckeho roztoku metoxidu sodného a vodného roztoku NaOH. Súčasne sa skúmal aj vzťah medzi štruktúrou a konzistenčnými vlastnosťami. Vplyv interesterifikácie na zmenu konzistencie tukových zmesí bol sledovaný s ohľadom na obsah ich tuhých podielov metódou pulznej NMR. Dosiahnuté výsledky potvrdili funkčnosť vodného roztoku NaOH ako randomizačného katalyzátora pre interesterifikáciu tukov a olejov.

neriadená interesterifikácia; bázičné katalyzátory; NaOH; MeONa; tukové zmesi; RP-HPLC; GLC; p-NMR

Interesterifikáciou prírodných tukov a olejov, t. j. zmenou ich triacylglycerolovej štruktúry, je možné modifikovať ich fyzikálne, nutritívne a úžitkové vlastnosti (Hustedt, 1976). Tento proces samotný, resp. v kombinácii s hydrogenáciou alebo frakcionáciou, rozširuje možnosti využitia prírodných tukov a olejov v rôznych potravinárskych produktoch (Wiedermann, 1978; Sonntag, 1982; Konishi et al., 1993). Interesterifikáciou totálne hydrogenovaných tukov a prírodných kvapalných olejov sa dajú pripraviť zmesi s požadovanou konzistenciou a žiadanými biologickými vlastnosťami (Sreenivasan, 1978).

Proces interesterifikácie sa ukazuje ako alternatívny proces parciálnej hydrogenácie tukov a olejov (Hustedt, 1976; List et al., 1977). Na rozdiel od parciálnej katalytickej hydrogenácie, pri ktorej vznikajú nežiadúce polohové aj geometrické izoméry mastných kyselín, sa biologická hodnota potravin procesom interesterifikácie nemení. Z hľadiska výživy nemá tento proces negatívny vplyv na výživovú hodnotu (Pokořný a kol., 1986).

V tomto článku sme sa zamerali na skúmanie procesu neriadenej interesterifikácie (randomizácie) tukových zmesí rastlinných olejov s totálne stuženými rastlinnými olejmi v rôznych hmotnostných pomeroch za účelom

prípravy tukov s požadovanými fyzikálnymi a nutritívnymi vlastnosťami. Overila sa interesterifikačná účinnosť vodného roztoku NaOH v porovnaní s bežne používaným metanolickým roztokom metoxidu sodného (MeONa). Proces randomizácie bol sledovaný metódou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie na obrátených fázach (RP-HPLC) v kombinácii s rozdeľovacou plynovou chromatografiou (GLC). Fyzikálne charakteristiky tukov boli, okrem základných analytických metód, sledované metódou pulznej nukleárnej magnetickej rezonancie (p-NMR), pomocou ktorej sa určil obsah tuhých podielov (tzv. Solid Fat Content, SFC) v závislosti od teploty.

MATERIÁL A METÓDY

Suroviny

Rafinovaný rastlinný olej (RO, zmes slnečnica-repka) bol odobraný z výrobného závodu Palma-Tumys, a.s. Bratislava a totálne stužený rastlinný olej (TSRO) bol pripravený z rastlinného oleja laboratórnou hydrogenáciou. Základné fyzikálne a chemické parametre surovín, vrátane profilu mastných kyselín (MK), sú uvedené v tab. I.

Príprava interesterifikačných katalyzátorov

Hydroxid sodný bol pripravený vo forme 30% vodného roztoku a 20% metanolický roztok metoxidu sodného bol pripravený rozpustením malých kúskov kovového sodíka v bezvodom metanole.

Proces neriadenej interesterifikácie (randomizácie)

Vzorky rastlinného oleja (po 120 g) s totálne stuženým rastlinným olejom v rôznych hmotnostných pomeroch boli interesterifikované do rovnováhy s 30% NaOH (1 hm. % katalyzátora na hmotnosť tukovej zmesi) alebo s 20% MeONa (0,5 hm. % katalyzátora na hmotnosť tukovej zmesi). Každá tuková zmes bola pred prídavkom katalyzátora zahrievaná 30 min pri 90 °C v atmosfére dusíka pri zníženom tlaku. Potom bola teplota zvýšená na 120 °C a bol pridaný katalyzátor NaOH po kvapkách v čase 5–7 minút. Reakčný čas pri zníženom tlaku bol 60 minút. Malý prívod dusíka cez kapiláru zabezpečil inertnú atmosféru a miešanie reaktantov. V prípade katalyzátora

MeONa bola randomizácia uskutočnená pri teplote 90 °C v čase 30 minút. Vznik tmavého sfarbenia po pridaní katalyzátora (v prípade MeONa je to už do 5 min, pri katalyzátore NaOH je to v intervale 5–10 min) indikuje tvorbu aktívneho katalyzátora (reakčný komplex medzi katalyzátorom a triacylglycerolmi). Proces interesterifikácie bol ukončený prídavkom 100 ml horúcej destilovanej vody s 10% nadbytkom H_3PO_4 vzhľadom na množstvo katalyzátora. Randomizované zmesi boli premyté s horúcou destilovanou vodou do neutrálnej reakcie a sušené filtráciou cez bezvodý Na_2SO_4 v sušiarňi pri teplote okolo 80 °C.

Laboratórna hydrogenácia

Rastlinný olej (400 g) bol hydrogenovaný v reaktore Parr 4563 (USA). Pracovná teplota bola 180 °C a tlak vodíka 200 kPa pri otáčkach 1 000 za min za použitia Ni katalyzátora Pricat 9910 (Unichema) v množstve 0,5 % na hmotnosť oleja. Zmes totálne stuženého oleja a katalyzátora bola filtrovaná cez bieliacu hlinku (Istrochema Bratislava) a potom zmiešaná s nehydrogenovaným kvapalným olejom v rôznych pomeroch pre účely randomizácie.

Základné chemické a fyzikálne parametre

Teplota topenia bola stanovená posunom v otvorenej kapiláre (ČSN 58 0101) a je udávaná ako aritmetický priemer troch hodnôt. Číslo kyslosti bolo určené podľa ČSN 58 0130 a číslo jódové bolo stanovené podľa Hanuša (ČSN 58 0101) a ich hodnoty sú uvádzané ako aritmetický priemer dvoch hodnôt.

Obsah mydla podľa Wolfa: naváži sa 5–40 g oleja (podľa predpokladaného obsahu mydla), pridá sa 1 ml destilovanej vody, zahreje na vodnom kúpeli pod spätným chladičom a silne pretrepe. Pridá sa 50 ml roztoku brómfenolovej modrej (BFM), ktorá bola pripravená rozpustením 0,5 ml 1% acetónového roztoku BFM v 100 ml acetónu s 2 % destilovanej vody. Zmes sa zahreje na vodnom kúpeli do varu, pretrepe a nechá stáť, až sa vytvoria dve vrstvy. Za prítomnosti mydla je vrchná vrstva modrá až zelená. Zmes sa titruje 0,01M HCl do žltého sfarbenia.

Trans-izoméry MK boli stanovené infračervenou spektroskopiou (AOCS Cd 14-61) za použitia trielaidínu ako štandardu.

GLC analýza mastných kyselín

Zastúpenie mastných kyselín bolo určené analýzou ich metylesterov, pripravovaných podľa Christophersonovej a Glassa (Christopherson, Glass, 1969) na plynovom chromatografe Hewlett-Packard HP 5890 Series II (USA). Na analýzu bola použitá sklenená náplňová kolóna so stacionárnou fázou Chromaton N-AW-DMCS so zakotvenou fázou 10% DEGJ a ako nosný plyn bol použitý dusík pri prietoku 15 ml/min. Analýza bola uskutočnená za izotermických podmienok pri teplote kolóny 180 °C. Zloženie mastných kyselín bolo vypočítané (ako hm. %) z plochy píkov integrátorom Hewlett-Packard HP 3396.

RP-HPLC analýza triacylglycerolov

Zmeny tried triacylglycerolov pri randomizácii boli sledované metódou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie na obrátených fázach. Za podmienok, ktoré uvedli Hurtovej a Schmidt (1993), boli vzorky analyzované na kvapalinovom chromatografe (Laboratorní přístroje Praha) na kolóne Separon SGX C18 (150 x 3 mm, veľkosť častíc 5 mm) s mobilnou fázou acetón-acetonitril (65:35, v/v) pri prietoku 0,5 ml/min a za použitia RI detektora (RIDK 101, LP Praha). 5 až 10% roztoky tukových vzoriek v acetóne boli injektované v množstve 20 µl (Rheodyne Loop Injector Model 7010, USA). Rozpúšťadlá použité pre prípravu mobilných fáz a tukových vzoriek (čistoty p.a.) boli pred použitím destilované a odvzdušnené.

Obsah tuhých podielov pulznou NMR

Hodnoty obsahu tuhých podielov tukových zmesí, tzv. SFC hodnoty, boli stanovené metódou pulznej nukleárnej magnetickej rezonancie na prístroji Bruker Minispec PC 120s (Nemecko). Vzorky boli vysušené vo vákuovej sušiarňi a analyzované za nasledovných podmienok: v NMR skúmavkách boli roztopené pri 80 °C, potom temperované vo vodnom kúpeli pri 60 °C 5 min, následne pri 0 °C 60 min a potom pri každej meranej teplote (0, 10, 20, 30 a 60 °C) 30 min. Spin-spin relaxačný signál bol meraný 10 a 70 ms po vysokofrekvenčnom pulze. Prístroj bol kalibrovaný na referenčné štandardy so známym obsahom tuhých podielov (0, 30,5 a 73,4 % TP), ktoré sú atestom dodávané výrobcom. Percento SFC každej tukovej zmesi (uvádzané ako aritmetický priemer troch meraní) bolo vypočítané firemným softwarom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Základné fyzikálne a chemické parametre surovín, vrátane zloženia mastných kyselín rastlinného oleja, hydrogenovaného rastlinného oleja a z nich pripravených zmesí, sú uvedené v tab. I.

Totálne stužený rastlinný olej (laboratórne hydrogenovaný na $J\check{C} = 1,3$), s obsahom 92,2 % kyseliny stearovej, použitý na prípravu tukových zmesí, bol zmiešaný s kvapalným rastlinným olejom. Boli pripravené tukové zmesi RO:TSRO v hmotnostnom pomere 2:1; 2,2:1; 2,6:1 a 3:1, ktoré boli podrobené randomizácii s vodným roztokom NaOH. Pre porovnanie katalytickej

I. Fyzikálne a chemické parametre rastlinného oleja a totálne hydrogenovaného rastlinného oleja a ich tukových zmesí – Physical and chemical parameters of vegetable oil, fully hydrogenated vegetable oil and their fat blends

Mastná kyselina ¹	RO	TSRO	RO : TSRO (w/w)			
			2 : 1	2,2 : 1	2,6 : 1	3 : 1
16 : 0	6,4	7,8	6,9	6,8	6,8	6,7
18 : 0	1,9	92,2	30,9	29,2	26,9	23,8
18 : 1	34,2	stopy ²	23,1	24,4	25,2	25,9
18 : 2	55,1	0,0	37,4	37,9	39,3	41,8
18 : 3	2,4	0,0	1,7	1,7	1,8	1,8
$J\check{C}$ (cgI ₂ /g)	124,4	1,3	85,1	87,25	93,1	94,55
t. top. (°C)	< 10,0	67,9	61,2	60,9	60,1	59,1
ČK (mgKOH/g)	0,13	0,69	0,28	0,27	0,24	0,21

$J\check{C}$ = jódové číslo podľa Hanuša – iodine value according to Hanuš

t. top. = teplota topenia – melting point

ČK = číslo kyslosti – acid value

RO = rastlinný olej – vegetable oil

TSRO = totálne stužený rastlinný olej – fully hydrogenated vegetable oil

16 : 0 = kyselina palmitová – palmitic acid

18 : 0 = kyselina stearová – stearic acid

18 : 1 = kyselina olejová – oleic acid

18 : 2 = kyselina linolová – linoleic acid

18 : 3 = kyselina linolénová – linolenic acid

¹fatty acid; ²traces

účinnosti vodného roztoku NaOH boli zmesi v pomeroch 2:1 a 2,6:1 randomizované aj s metanolickým roztokom MeONa.

Obsah kyseliny stearovej v týchto zmesiach sa pohybuje v rozmedzí 20 až 30 %. Z nutritívneho hľadiska je dôležité zastúpenie najmä kyseliny linolovej, ktorá patrí medzi esenciálne MK. Pomerne vysoký obsah kyseliny linolovej (38–42 %), rovnako aj zastúpenie ostatných mastných kyselín, sa v priebehu randomizácie nemení. Vysoký obsah tejto esenciálnej mastnej kyseliny je z výživového hľadiska žiadúci. Rovnako významné je aj pomerne zastúpenie polynenasýtených MK ku nasýteným MK (pomer PU/S). Pomer PU/S uvedených tukových zmesí sa pohybuje v rozmedzí 1,0–1,4 (pre pomer 2:1 je 1,0, pre pomer 2,2:1 je 1,1, pre pomer 2,6:1 je 1,2 a pre pomer 3:1 je 1,4), čo zodpovedá hodnote uvádzanej FAO/WHO a komisiou Európskej únie ($PU/S \geq 1$) (Dostálová, Pokorný, 1994). Z hľadiska výživy preto uvedené randomizované produkty môžu nájsť uplatnenie pri výrobe nutritívne hodnotných potravinárskych výrobkov, napr. dietetických margarínov.

Proces randomizácie bol sledovaný zmenou zloženia tried triacylglycerolov (TAG) pôvodných tukových zmesí a ich randomizovaných produktov. Tieto zmeny v zložení tried TAG boli analyzované metódou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie na obrátených fázach a sú znázornené v tab. II. Vzorky pôvodných a randomizovaných tukových zmesí boli separované do tried podľa tzv. ECN hodnôt (Shukla, 1988). Identifikácia a priradenie ECN príslušným triedam TAG boli urobené na základe porovnávania s retenčnými časmi separovaných čistých TAG, ako aj s ohľadom na známe zastúpenie mastných kyselín tvoriacich molekuly TAG tukových zmesí za súčasného porovnania s literárnymi údajmi (Shukla, 1988; Schmidt, Hurťová, 1992).

Na základe hypotézy distribúcie MK spôsobom 1,2,3-náhodne (Hustedt, 1976; Schmidt, 1988) bolo počítačom určené teoretické zloženie štruktúr TAG molekúl uvedených tukových zmesí po ich randomizácii v stave rovnováhy. Ako podklad pre výpočet boli použité vstupné údaje o zložení MK príslušných pôvodných tukových zmesí, získaných analýzou metódou GLC. Randomizované produkty, analyzované RP-HPLC, boli porovnané so zložením tried TAG vypočítaným podľa 1,2,3-náhodnej distribúcie. Výsledky ukázali dobrú zhodu v štruktúre TAG tried zistených experimentálne a výpočtom podľa náhodnej distribúcie (tab. II).

II. Zloženie triacylglycerolových tried RO : TSRO (w/w) pred randomizáciou s NaOH a po nej – The triacylglycerol group composition of VO : FHVO (w/w) before and after randomization with NaOH

ECN	RO : TSRO (w/w)											
	2 : 1			2,2 : 1			2,6 : 1			3 : 1		
	pôv.	NaOH		pôv.	NaOH		pôv.	NaOH		pôv.	NaOH	
		exp.	teor.		exp.	teor.		exp.	teor.		exp.	teor.
	[%]											
42	24,2	7,9	6,9	23,8	8,2	7,2	23,4	8,6	8,4	23,1	9,0	9,2
44	34,7	15,2	15,3	34,6	15,7	16,4	34,3	17,4	17,5	33,8	19,7	19,7
46	24,3	25,4	25,1	24,3	26,6	26,1	24,2	26,7	26,4	24,1	28,2	27,5
48	13,4	25,0	24,9	13,5	24,6	24,9	13,7	24,3	24	13,9	24,3	23,6
50	2,7	19,1	19,2	2,9	18,1	17,9	3,4	17,1	16,8	3,6	14,3	14,6
52	0,7	7,4	8,6	0,9	6,6	7,5	1,2	6,1	6,9	1,5	4,5	5,4

ECN= ECN hodnoty (Equivalent Carbon Number) určené metódou RP-HPLC – ECN values determined by RP-HPLC

pôv. = zloženie TAG tried pôvodných zmesí, určené metódou RP-HPLC [plošné %] – TAG group composition of original fat blends determined by RP-HPLC [area %]

exp. = zloženie TAG tried zmesí randomizovaných s NaOH, určené RP-HPLC [plošné %] – TAG group composition of interesterified fat blends with NaOH determined by RP-HPLC [area %]

teor. = zloženie TAG tried randomizovaných tukových zmesí vypočítaných podľa 1,2,3-náhodnej distribúcie [rel. mol %] – TAG group composition of randomized fat blends determined by calculation according to random distribution

III. Teploty topenia pôvodných tukových zmesí RO:TSRO v rôznych hmotnostných pomeroch a ich randomizovaných zmesí s NaOH – The melting points of fat blends of VO:FHVO in various mass ratios and their randomized blends with NaOH

RO : TSRO (w/w)	2 : 1		2,2 : 1		2,6 : 1		3 : 1	
	pôv. ²	rand. ³	pôv.	rand.	pôv.	rand.	pôv.	rand.
Teplota topenia ¹ [°C]	61,2	40,6	60,9	38,9	60,1	37,1	59,1	34,2

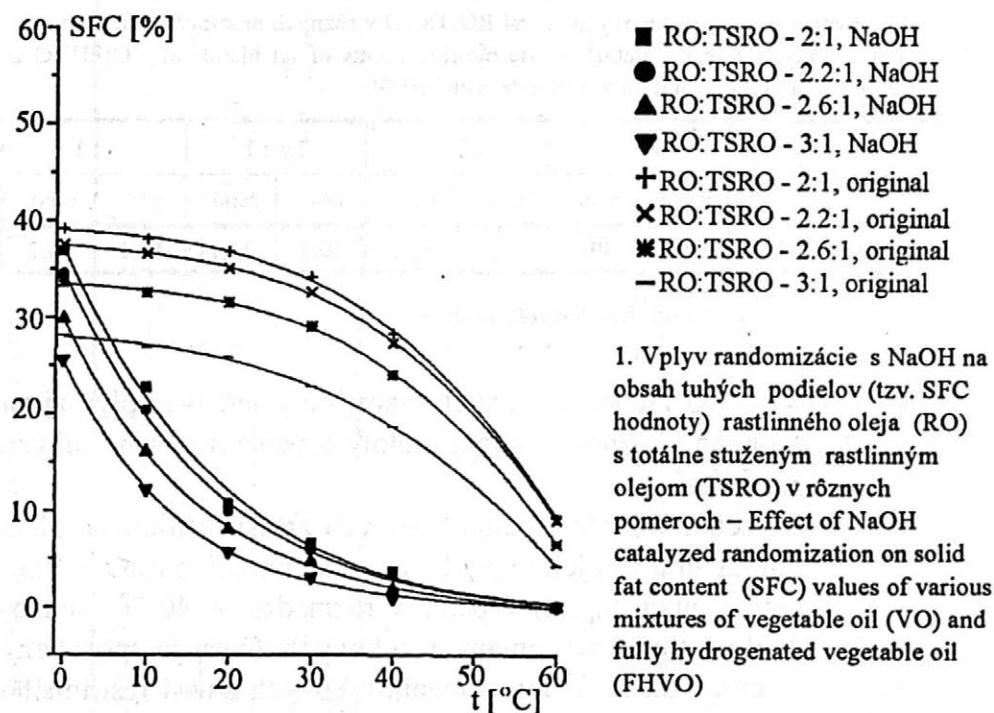
¹melting point, ²original fat blend, ³randomized fat blend

Zmena zloženia TAG randomizovaných tukových zmesí má vplyv aj na zmenu ich fyzikálnych vlastností, najmä teploty topenia a obsahu tuhých podielov tukových zmesí.

V tab. III sú uvedené teploty topenia tukových zmesí rastlinného oleja s totálne stuženým rastlinným olejom pred a po randomizácii s NaOH. Randomizované produkty majú teploty topenia v rozmedzí 34–40 °C. Jednoznačný pokles teploty topenia skúmaných tukových zmesí je spôsobený randomizáciou. Tento pokles teploty topenia tukových zmesí rastlinného oleja s totálne stuženým rastlinným olejom závisí na zložení pôvodnej zmesi a je ovplyvnený najmä prítomnosťou trinasýtených TAG totálne stuženého rastlinného oleja. Najväčší pokles teploty topenia, t.j. o 25 °C, bol zaznamenaný v prípade zmesi RO: TSRO v pomere 3:1 a najmenší pokles, približne o 20 °C, bol v prípade pomeru 2:1.

Pokles obsahu vyššie topiacich sa zložiek tukových zmesí procesom randomizácie dokumentuje aj obr. 1, kde je porovnaný obsah tuhých podielov (tzv. SFC hodnota), pôvodných a randomizovaných tukových zmesí. Rovnako ako v prípade teplôt topenia, bol zaznamenaný jednoznačný pokles obsahu tuhých podielov randomizovaných zmesí v závislosti od zloženia pôvodnej zmesi.

Randomizované tukové zmesi RO:TSRO v uvedených hmotnostných pomeroch majú v porovnaní s pôvodnými tukovými zmesami zmenené fyzikálne vlastnosti. Najmä vďaka zníženiu teplôt topenia randomizovaných zmesí môžu byť tieto využité pre produkciu tukových zložiek rôznych potravinárskych výrobkov. Randomizované tukové zmesi s teplotou topenia v rozmedzí 34–37 °C (RO:TSRO v pomere 2,6:1 a 3:1) môžu slúžiť pre prípravu výživovo hodnotných margarínov s nízkym obsahom trans izomérov MK (pod 5 %) a s pomerne vysokým obsahom esenciálnych MK, najmä kyseliny



linolovej. Produkty topiace a v oblasti 38–42 °C (RO:TSRO 2:1 a 2,2:1) môžu byť využité ako alternatíva bravčovej masti alebo hovädzieho loja pri smažení a vyprášaní. Uvedené produkty, s ohľadom na ich konzistenčné vlastnosti, môžu byť využité aj v pekárskom a cukrárskom priemysle.

Na záver sú uvedené výsledky porovnania interesterifikačnej účinnosti vodného roztoku NaOH v porovnaní s klasicky používaným metanolickým roztokom MeONa. V tab. IV sú uvedené tukové zmesi RO:TSRO v pomeroch 2:1 a 2,6:1, randomizované s 1% NaOH ako 30% vodným roztokom a 0,5% MeONa ako 20% metanolickým roztokom.

Výsledky prezentované v tab. IV a znázornené na obr. 2 potvrdili vhodnosť použitia vodného roztoku NaOH ako interesterifikačného katalyzátora v porovnaní s bežne používaným interesterifikačným katalyzátorom metanolickým roztokom MeONa. Výhodou NaOH je skutočnosť, že sa bežne používa v priemysle tukov a olejov, je dostupnejší, lacnejší a dobre skladovateľný. Kým pri použití metanolického MeONa sa tvoria ako vedľajšie produkty hlavne zdravotne nežiaduce metylestery mastných kyselín (MeMK), ktoré v konečnom dôsledku znižujú aj výslednú teplotu topenia randomizovaného produktu, v prípade NaOH vznikajú vo zvýšenej miere najmä voľné mastné

IV. Fyzikálne a chemické charakteristiky randomizovaných tukových zmesí RO:TSRO (2:1 a 2,6:1) s vodným roztokom NaOH a metanolickým roztokom MeONa – Physical and chemical characteristics of randomized fat blends of VO:FHVO (2:1 a 2.6:1) with water solution of NaOH and methanolic solution of MeONa

Zloženie TAG tried ¹	RO :TSRO (w/w)					
	2 : 1			2,6 : 1		
	NaOH	MeONa	teor.	NaOH	MeONa	teor.
ECN ²	area %		mol %	area %		mol %
42	7,9	7,9	6,9	8,6	8,9	8,4
44	15,2	15,6	15,3	17,4	17,3	17,5
46	25,4	25,1	25,1	26,7	26,2	26,4
48	25,0	24,4	24,9	24,3	23,6	24,0
50	19,1	19,7	19,2	17,1	17,2	16,8
52	7,2	7,3	8,6	6,1	6,8	6,9
t. top. [°C]	40,6	37,8	–	37,1	34,3	–
ČK [mgKOH/g]	7,6	0,89	–	7,4	0,83	–
OM ^a [%]	$2,3 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-4}$	–	$2,8 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-4}$	–
OM ^b [%]	0	0	–	0	0	–

NaOH = randomizovaná tuková zmes s 1% NaOH (ako 30 % vodný roztok) – randomized fat blend with 1% NaOH (30% water solution)

MeONa = randomizovaná tuková zmes s 0.5% MeONa (ako 20 % metanolický roztok) – randomized fat blend with 0.5% MeONa (20% methanolic solution)

teor. = zloženie TAG tried randomizovaných zmesí určených výpočtom podľa náhodnej distribúcie [rel. mol %] - composition of TAG group of randomized blends determined by calculation according to random distribution [rel. mol. %]

ECN = equivalent carbon number

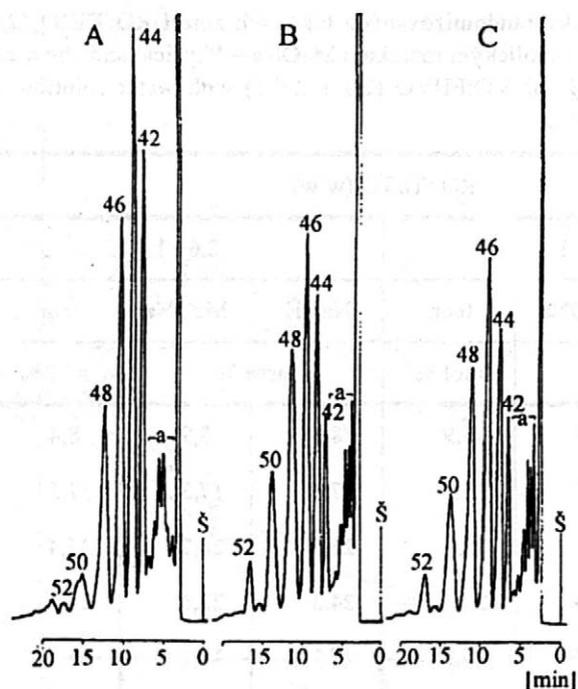
t. top. = teplota topenia – melting point

ČK = číslo kyslosti - acidity value

OM^a = obsah mydla pred premytím - soap value before washing out

OM^b = obsah mydla po premytí - soap value after washing out

¹TAG group composition



2. HPLC záznam separácie tried TAG pôvodnej tukovej zmesi RO:TSRO v pomere 2,6:1 (A) a po jej randomizácii s MeONa (B) a NaOH (C) – HPLC separation of TAG groups of original fat blends of VO:FHVO at ratio 2.6:1 (A) and after randomization with MeONa (B) and NaOH (C)

a = oxidované a hydrolyzované formy (VMK, MAG, DAG a v prípade MeONa aj MeMK) – oxidated and hydrolyzed forms (FFA, MAG, DAG and also FAME by using MeONa)

kyseliny (VMK), príp. diacylglyceroly (DAG) a monoacylglyceroly (MAG) ako produkty hydrolýzy. Celkové zastúpenie vedľajších produktov je porovnateľné s tvorbou vedľajších produktov randomizácie pri použití metanolickeho MeONa (obr. 2). Okrem toho sú tieto látky netoxické. VMK sa jednoducho odstraňujú v rafinačnom procese a parciálne acylglyceroly sú základným komponentom emulgátorov používaných pri výrobe emulgovaných tukov.

ZÁVER

Záverom môžeme na základe dosiahnutých výsledkov konštatovať, že neriadená interesterifikácia katalyzovaná vodným roztokom NaOH je vhodná pre produkciu tukových zmesí z kvapalného rastlinného oleja a totálne stuženého rastlinného oleja. Zmesi s teplotou topenia 34–37 °C môžu byť použité pre produkciu margarínov s pomerne vysokým zastúpením esenciálnych mastných kyselín (okolo 40 %) a s minimálnym obsahom trans izomérov mastných kyselín (pod 5 %). Randomizované tukové zmesi s vyššou teplotou topenia (okolo 40 °C) môžu byť použité pri výrobe smažených, resp. vyprázaných potravín.

Literatúra

- DOSTÁLOVÁ, J. – POKORNÝ, J.: Vývoj spotřeby tuků u nás a ve světě. In: Sbor. Předn. XXXII. Sem. technologie a analytiky tuků. Liblice 1994: 1–16.
- HURTOVÁ, S. – SCHMIDT, Š.: Vplyv podmienok na HPLC separáciu triacylglycerolov. In: Sbor. Předn. XXX. Sem. technologie a analytiky tuků. Seč 1992: 118–123.
- HUSTEDT, H. H.: Interesterification of Edible Oils. J. Amer. Oil Chem. Soc., 53, 1976: 390–392.
- CHRISTOPHERSON, S. W. – GLASS, R. L.: Preparation of milk fat esters by alcoholysis in essentially non-alcoholic solution. J. Dairy Sci., 52, 1969: 1289–1290.
- KONISHI, H. – NEFF, W. E. – MOUNTS, T. L.: Chemical interesterification with regioselectivity for edible oils. J. Amer. Oil Chem. Soc., 70, 1993: 411–415.
- LIST, G. R. – EMKEN, E. A. – KWOLEK, W. F. – SIMPSON, T. D. – DUTTON, H. J.: “Zero trans“ Margarines. Preparation, structure and properties of interesterified soybean oil-soy trisaturate blends. J. Amer. Oil Chem. Soc., 54, 1977: 408–413.
- POKORNÝ, J. a kol.: Interesterifikace tuků. In: Technologie tuků. Praha, SNTL 1986: 234–251.
- SHUKLA, V. K. L.: Recent advances in the High-performance liquid chromatography of lipids. Progr. Lipid Res., 27, 1988: 5–38.
- SCHMIDT, Š. – HURTOVÁ, S.: Vysokoučinná kvapalinová chromatografia triacylglycerolov. Bulletin PV, 31, 1992: 187–194.
- SCHMIDT, Š.: Štruktúrna analýza lipidov. I. Hypotézy polohovej distribúcie mastných kyselín v triacylglyceroloch. Bulletin PV, 27, 1988: 75–82.
- SONNTAG, N. O. V.: Fat splitting, esterification and interesterification. In: SWERN, D. (Ed.): Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Vol. 2. New York 1982: 97–173.
- SREENIVASAN, B.: Interesterification of Fats. J. Amer. Oil Chem. Soc., 55, 1978: 796–805.
- WIEDERMANN, L. H.: Margarine and margarine oil, formulation and control. J. Amer. Oil Chem. Soc., 55, 1978: 823–829.
- ČSN 58 01 01. Metody zkoušení tuků a olejů. Praha 1965.
- ČSN 58 01 30. Metody zkoušení tuků a olejů. Praha 1986.
- Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists' Society, 3rd ed., Method No. Cd 14–61, AOCS, Champaign, IL, 1973.

Došlo 18. 8. 94

Kontaktní adresa:

Ing. Silvia Hurtová, Slovenská technická univerzita, Chemickotechnologická fakulta, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika, tel.:07/326 021
fax: 07/493 198

Ústav zemědělských a potravinářských informací
Slezská 7, 120 56 Praha 2

Tel. (02) 257 541 Fax: (02) 257 090

Z pověření České akademie zemědělských věd vydává 10 vědeckých časopisů, které uveřejňují původní vědecké práce, vědecká pojednání, studie a přehledy zahraniční literatury z odvětví zemědělství, potravinářství a lesnictví. Časopisy jsou určeny především pracovníkům výzkumu, vysokých škol, vedoucím pracovníkům, odborníkům ve šlechtitelství a semenářství, plemenářství, ochraně rostlin, veterinářství, vývojových pracovišť zemědělské techniky, zemědělských staveb aj.

Časopis	Periodicita	Cena Kč
Rostlinná výroba (Plant Production)	12	468,-
Živočišná výroba (Animal Production)	12	468,-
Zemědělská ekonomika (Agricultural Economics)	12	468,-
Lesnictví – Forestry	12	468,-
Veterinární medicína (Veterinary Medicine – Czech)	12	396,-
Potravinářské vědy (Food Sciences)	6	220,-
Zemědělská technika (Agricultural Engineering)	4	140,-
Ochrana rostlin (Plant Protection)	4	140,-
Genetika a šlechtění (Genetics and Plant Breeding)	4	140,-
Zahradnictví (Horticultural Science)	4	132,-

Uvedené časopisy je možné objednat na adrese:

Ústav zemědělských a potravinářských informací
Slezská 7
120 56 Praha 2

CELKOVÁ MIGRACE SLOŽEK VYBRANÝCH OBALOVÝCH MATERIÁLŮ NA BÁZI PLASTŮ DO POTRAVINOVÝCH SIMULANTŮ*

Overall Migration of Constituents of Plastic Packaging Materials into Food Simulants

Jana KALAČOVÁ, Jaroslav DOBLÁŠ, Michal VOLDŘICH, Dušan ČURDA

Institute of Chemical Technology – Department of Food Preservation and Meat Technology, Prague, Czech Republic

Abstract: The results of determination of overall migration for one-material plastic films produced in the Czech Republic are described. Tested packaging materials included films of polyamide (PA), polyethylene terephthalate (PET) polyethylene of high and low density (HDPE and/or LDPE), polypropylene (PP), and polyvinyl chloride (PVC). Besides these plastic materials paperboard covered by polypropylene was also used. The experiments were carried accord to the regulations accepted in the countries of European Union. Distilled water, 3% (w/v) acetic acid, 15% (v/v) ethanol and olive oil were used as food simulants, overall migration was determined at temperatures ranging from 40 °C to 150 °C. The results of overall migration into olive oil were compared with substance transfer into proposed volatile simulants of fatty foods, isooctane and 95% (v/v) ethanol. The total amount of extractable substances were followed using n-heptane. Overall migration into water simulants did not exceed 0.2 mg/dm² for PET film, 0.5 mg/dm² for polyolefin films, 0.6 mg/dm² for PVC, 1.1 mg/dm² for PA materials and 1.9 mg/dm² for paperboard. All these migration levels were much lower than limit 10 mg/dm². The migration into olive oil was also rather low, e.g. in the range from –0.5 to 3.2 mg/dm² for plastics and 7.6 mg/dm² for paperboard. The obtained results confirmed the possibility of using the volatile simulants of fatty food for migration testing.

overall migration; specific migration; packaging material; plastics; phtalates

Abstrakt: V práci jsou uvedeny výsledky sledování celkové migrace složek vybraných jednomateriálových fólií pro balení potravin produkovaných v České republice, tj. polyamidových pečicích fólií Cutisin FF/M a FF/S, fólie Mikroten z polyetylenu vysoké hustoty pro přípravu varných sáčků, polyethylentereftalátové fólie Tefolan pro balení pečených pokrmů, dále fólie z rozvětveného polyetylene-

* Práce byla provedena v rámci výzkumného úkolu č. 509/93/1099 financovaného GA ČR

nu, polypropylenu, polyamidu a polyvinylchloridu, do potravinových modelových roztoků podle směrnice platných od 1. 1. 1993 v zemích EU, tj. destilované vody, 3% (w/v) kyseliny octové, 15% (v/v) etanolu při teplotách 40 a 100 °C a do olivového oleje při teplotách 40 až 150 °C. Výsledky celkové migrace do olivového oleje byly porovnány s hodnotami získanými za použití isooktanu jako potenciálního těkavého simulantu tučných potravin a s celkovým množstvím extrahovatelných látek uvolněných do n-heptanu. Kromě jednomateriálových obalových fólií byla sledována i celková migrace do modelových roztoků z kartonu zušlechťeného nánosem polypropylenu. Při použití vodných simulantů nepřekročila úroveň celkové migrace hladinu 0,2 mg/dm² pro polyetylentereftalátové a 0,5 mg/dm² pro polyolefinové obaly. U materiálů na bázi polyamidu činil maximální nález 1,1 mg/dm², pro fólie typu PVC 0,6 mg/dm² a pro laminovaný karton jsme v tomto případě našli až 1,9 mg/dm². Všechny tyto hodnoty jsou hluboko pod uznávaným limitem 10 mg/dm². Také úroveň celkové migrace do olivového oleje u všech testovaných materiálů byla nízká, pohybovala se v rozmezí od -0,5 do 3,2 mg/dm², jen pro laminovaný karton jsme v tomto případě našli 7,6 mg/dm². Hodnoty migrace stanovené pomocí isooktanu po dvou hodinách při 40 °C a 95% etanolu po 10 dnech při 40 °C byly z praktického hlediska velmi blízké hodnotám stanoveným při aplikaci oleje, pouze pro polyamidové fólie poskytoval 95% etanol výrazně nadhodnocené výsledky v porovnání s isooktanem a olivovým olejem. V práci jsou uvedeny i výsledky stanovení specifické migrace ftalátů z fólie Tefolan do vodných simulantů.

celková migrace; specifická migrace; obaly; plasty; ftaláty

Kontaminace potravin složkami obalového materiálu patří k nejzávažnějším hygienickým problémům plynoucím ze vzájemné interakce obalu a baleného produktu. Kromě rozpouštění obalového materiálu v prostředí potravin, které je typické pro kovové obaly, dochází často také k extrakci pouze určitých komponent obalu do potravin. Tento druhý případ je typický pro obalové materiály na bázi plastů a vzhledem k prudkému rozvoji sortimentu těchto obalových prostředků v posledním desetiletí se stává stále významějším, a to i s ohledem na rostoucí zájem nejširší veřejnosti o nezávadnost životního prostředí.

V České republice není celkové množství látek uvolňovaných obaly z polymerů do potravin omezeno zvláštními hygienickými předpisy. Směrnice Ministerstva zdravotnictví ČR č. 49 z roku 1978 o hygienických požadavcích na plasty a předměty z plastů přicházející do styku s požívatelny stá-

noví pouze základní podmínky výroby plastů určených pro kontakt s potravinami a některé vlastnosti hotového polymeru včetně povoleného obsahu škodlivých příměsí, celkového obsahu složek extrahovatelných do dietyletoru, množství popela atd. V zemích Evropského unie (EU) platí od 1. ledna 1993 jednotný systém legislativních opatření (Tice, 1992) pro posouzení obalových materiálů z hlediska migrace jejich komponent do potravin. Základním kritériem v tomto systému je hodnota celkové migrace složek obalu do potravin, přičemž celkové množství látek uvolněných z obalu nesmí překročit limit 60 mg na 1 kg potravin, což odpovídá 10 mg na dm^2 plochy obalového materiálu.

Vzhledem k tomu, že se předpokládá postupné sjednocení tuzemských předpisů s legislativou EU, zaměřili jsme se v rámci studia tepelné stability obalových materiálů, jímž se na našem pracovišti zabýváme, i na posouzení celkové migrace z vybraných obalových materiálů běžně používaných v České republice podle předpisů zaváděných v zemích EU. Přitom jsme sledovali i vhodnost náhrady olivového oleje jako simulantu tučných potravin odpařitelnými modelovými roztoky. Tyto experimenty jsme doplnili také posouzením specifické migrace izomerů kyseliny ftalové ze vzorku polyetylentereftalátové fólie do vodných modelových roztoků.

MATERIÁL A METODY

Sledované obalové materiály:

- *Tefolan*, polyetylentereftalátová fólie tloušťky 36 μm určená pro balení pečených pokrmů, a fólie *Durofol* na bázi PVC o tloušťkách 200 μm , resp. 300 μm , využívaná pro termoplastické tvarování potravinových obalů – výrobce Technoplast, a.s., Chropyně;
- *Cutisin FF/M* a *FF/S*, polyamidové pečicí fólie tloušťky 15 μm , resp. 30 μm , a polyamidové umělé střevo pro balení masných výrobků tloušťky 50 μm – výrobce Cutisin, a.s., Jilemnice;
- *Mikroten*, fólie z nízkotlakého polyetyleny o tloušťce 50 μm určená i pro výrobu varných sáčků – výrobce Granitol, a.s., Moravský Beroun;
- fólie z rozvětveného polyetyleny (LDPE) o tloušťce 60 μm – výrobce Fatra, a.s., Napajedla;

- fólie z polypropylenu (PP), nelakovaná, tloušťka 100 μm – výrobce Chemosvit, a.s., Svit, Slovensko;
- potravinářský karton (plošná hustota 250 g/m^2) zušlechtěný polypropylem (80 g/m^2) – výrobce TAPA, a.s., Tábor.

Při stanovení hodnoty celkové migrace složek testovaných materiálů jsme pracovali podle metodiky platné pro země EU (Council ..., 1982, 1985). Jako modelových roztoků jsme použili destilovanou vodu, 3% (w/v) vodný roztok kyseliny octové, 15% (v/v) vodný roztok etanolu a rektifikovaný olivový olej. Pro porovnání jsme provedli i extrakci testovaných vzorků do isooktanu, 95% etanolu a n-heptanu.

Ve všech případech jsme 2 dm^2 obalového materiálu zalili 100 ml roztoku simulantu a uložili na 10 dní při 40 °C, resp. u vodných simulantů zahřívali pod zpětným chladičem k varu po 1 hodinu, u oleje na teplotu 100 °C, 121 °C po 1 hodinu a 150 °C po 30 minut (podle tepelné odolnosti testované fólie). Při použití alternativních odpařitelných simulantů tučných potravin jsme použili podmínky doporučené v literatuře, tj. u isooktanu dvě hodiny při 40 °C, pro 95% etanol 10 dní při 40 °C a 2 hodiny varu (98 °C) pod zpětným chladičem pro n-heptan.

U těkavých simulantů jsme pak po odpaření modelového roztoku stanovili množství uvolněných látek gravimetricky a výsledek vztáhli na 1 dm^2 testované fólie. V případě olivového oleje jsme zjišťovali rozdíl hmotnosti fólie před působením oleje a po něm. Polárnější testované materiály (PET a PA fólie) byly před kontaktem s olejem a po něm kondicionovány v exikátoru s 35% H_2SO_4 , což odpovídá relativní vlhkosti 50 %, dokud se jejich hmotnost během 24 hodin nezměnila o méně než 1 mg. Rozdíl hmotnosti fólie před migrační zkouškou a po ní jsme potom korigovali na hmotnost oleje vázaného po zkoušce na obalový materiál, kterou jsme určili na základě stanovení obsahu kyseliny olejové po extrakci simulantu z fólie trichlorotrifluoroetanem (150 ml), uvolnění mastných kyselin a jejich převedení na metylestery plynovou chromatografií. Postup spočíval v odpaření alikvotního podílu freonového roztoku obsahujícího zhruba 0,1 g oleje na vodní lázni, zahřevu olejového zbytku pod zpětným chladičem 2 hodiny spolu s 10 ml 2% roztoku kyseliny sírové v metanolu a s přídatkem vnitřního standardu kyseliny heptadekanové. Ještě za varu jsme pak přidali 3 ml n-heptanu a po zchladnutí a vysolení nasyceným roztokem NaCl jsme 1 μl heptanové fáze nastříkali do plynového chromatografu. Podmínky analýzy byly následující-

ci: plynový chromatograf HRGC 5300 (Carlo Erba Instruments) s plamenově ionizačním detektorem a kapilární kolonou délky 50 m a vnitřním průměrem 0,25 mm s chemicky vázaným metylsilikonem (HP 1); nosný plyn dusík (průtok 0,6 ml/min); teplota injektoru 240 °C, detektoru 260 °C a kolony 190–260 °C po 2 °C/min; dělicí poměr 1:20.

Při výpočtu obsahu oleje v testované obalové fólii jsme použili korekčního faktoru zohledňujícího rozdíly v odezvě detektoru a změny složení oleje během migrační zkoušky.

V případě destilované vody jsme migrační testy doplnili i sensorickým posouzením rozdílu mezi simulačním roztokem po migračním testu a destilovanou vodou vystavenou stejnému režimu jako modelový roztok při zkoušce avšak bez obalového materiálu.

K porovnání jsme použili tetrádového testu (Pokorný, Davídek, 1990), hodnocení prováděla šestičlenná komise školených posuzovatelů z řad pracovníků našeho ústavu. Každý z posuzovatelů obdržel označený srovnávací vzorek (destilovaná voda zpracovaná stejným způsobem jako při stanovení migrace, avšak bez vzorku obalového materiálu) a k němu trojici vzorků označených náhodnými čísly, z nichž jeden nebo dva jsou totožné se srovnávacím, ostatní jsou výluhy. Posuzovatel vždy označil vzorek shodný se srovnávacím a uvedený postup zopakoval celkově se čtyřmi trojicemi vzorků, takže celkem bylo hodnoceno 24 trojic.

Izomery kyseliny ftalové uvolněné ze vzorků polyetylentereftalátové fólie do modelových roztoků jsme stanovili plynovou chromatografií po převedení na trimetylsilylestery. Izomery kyseliny ftalové jsme nejprve izolovali několikanásobnou extrakcí do dietyleteru po okyselení na pH 2 přidávkem 10% HCl. Spojené eterové fáze jsme zakoncentrovali na vodní lázni za použití Snyderovy kolonky a vysušením na vakuové odparce. K odparku jsme přidali 500 µl roztoku kyseliny benzoové v pyridinu (20 mg/ml) jako vnitřního standardu a 100 µl BSA pro převedení stanovovaných látek na silylestery. Po 25 minutách jsme 1 µl reakční směsi nastříkovali přímo do plynového chromatografu. Podmínky analýzy byly stejné jako pro stanovení mastných kyselin, pouze teplota injektoru byla 250 °C, teplota detektoru 280 °C a teplotní program kolony 200–280 °C po 8 °C/min. Vyhodnocení jsme opět provedli metodou vnitřního standardu za použití korekčního faktoru zohledňujícího odezvu detektoru a výtěžnost metody.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky stanovení celkové migrace testovaných obalových materiálů do modelových náplní, isooktanu, 95% etanolu a n-heptanu jsou uvedeny v tab. I a II. Volba testovaných vzorků byla ovlivněna skutečností, že uvedené experimenty jsou součástí projektu studia tepelné stability potravinářských obalů a použité vzorky (kromě obalových fólií na bázi PVC a LDPE) představují v současnosti hlavní typy jednomateriálových fólií (s výjimkou kartonu laminovaného polypropylenem) vyráběných v České republice, resp. na Slovensku, a používaných pro spotřebitelská balení, v nichž jsou potraviny zahřívány. Laminovaným materiálům, jejichž zkoušení vyžaduje poněkud odlišnou konstrukci zkušební cely pro stanovení migrace umožňující pouze jednostranný kontakt s modelovou náplní, se hodláme věnovat později. Výsledky uváděné v této práci byly získány zkouškami, při nichž vzorek fólie byl zcela a oboustranně smáčen simulantem, pouze u kartonu s nánosem polypropylenu byl modelový roztok naplněn do misky z testovaného materiálu tak, aby do styku s náplní přicházela pouze vnitřní strana obalu. Proto jsme v tomto případě sledovali pouze migraci při 40 °C.

Z uvedených údajů je zřejmé, že nalezené hodnoty migrace do potravinových simulantů ani zdaleka nedosahují limitní hodnoty 10 mg/dm², pouze v případě zušlechťeného kartonu při migraci do olivového oleje byl nález poněkud vyšší, tj. 7,6 mg/dm².

V souladu s očekáváním jsme našli nízké hodnoty celkové migrace do vodných simulantů u vzorků polyolefinových a polyetylentereftalátových fólií, u nichž nejvyšší nález činil 0,5 mg/dm² pro fólii z rozvětveného polyetyleny do 15% etanolu. Poněkud vyšší hodnoty celkové migrace jsme v tomto případě zjistili u fólií na bázi polyamidu, resp. PVC, což je pochopitelné vzhledem k jejich polárnějšímu charakteru, a u zušlechťeného kartonu, avšak ani v těchto případech hodnoty migrace nepřekročili 0,9, resp. 1,9 mg/dm².

Senzorické porovnání destilované vody po migrační zkoušce také u všech testovaných vzorků neprokázalo jejich významný vliv na organoleptické vlastnosti modelového roztoku.

Uvedené výsledky jsou srovnatelné s hodnotami uváděnými v literatuře pro podobné typy obalových fólií (Ahvenainen et al., 1988; Ashby, 1988), kde se pro polyetylentereftalátové a polyetylenové fólie uvádí pro migraci do vodných simulantů hodnoty většinou pod 1,5 mg/dm² pochopitelně v závislosti na tloušťce testovaného materiálu.

I. Celková migrace složek obalových materiálů do vodných modelových roztoků vyjádřena jako hmotnost látek v mg uvolněných za uvedených podmínek z 1 dm² obalového materiálu – Overall migration of constituents of packaging materials into water simulants expressed as substance weight in mg released from 1 dm² of packaging material under the given conditions

Obalový materiál ¹	Podmínky migrace ⁴	Modelové roztoky ⁷		
		voda ⁸	3% kyselina octová ⁹	15% etanol ¹⁰
Cutisin FF/M (15 μm)	40 °C/10 dní ⁵	0,3	0,5	0,4
	teplota varu ⁶ /60 min	0,3	0,6	0,3
Cutisin FF/S (30 μm)	40 °C/10 dní	0,5	0,8	0,5
	teplota varu/60 min	0,5	0,9	0,6
Polyamidové střevo ²	40 °C/10 dní	0,6	0,8	0,5
	teplota varu/60 min	0,7	1,1	0,8
Tefolan (36 μm)	40 °C/10 dní	0,1	0,1	0,1
	teplota varu/60 min	0,1	0,2	0,1
Durofol (200 μm)	40 °C/10 dní	0,1	0,5	0,5
	teplota varu/60 min	0,2	0,5	0,4
Durofol (300 μm)	40 °C/10 dní	0,1	0,6	0,4
	teplota varu/60 min	0,2	0,5	0,4
Mikroten (50 μm)	40 °C/10 dní	0,2	0,2	0,4
	teplota varu/60 min	0,1	0,2	0,3
LDPE (60 μm)	40 °C/10 dní	0,1	0,2	0,5
	teplota varu/60 min	0,1	0,1	0,3
PP (100 μm)	40 °C/10 dní	0,1	0,1	0,3
	teplota varu/60 min	0,1	0,1	0,3
Karton ³ + PP	40 °C/10 dní	0,9	1,5	1,9

¹packaging material; ²polyamide film; ³paperboard; ⁴condition of migration; ⁵days; ⁶boiling temperature; ⁷water simulants; ⁸water; ⁹acetic acid; ¹⁰ethanol

Také nalezené hodnoty migrace do oleje, tj. 1,4–3,2 mg/dm² pro polyolefinové fólie a hodnoty do 1,3 mg/dm² pro polyetylentereftalát, resp. do 0,5 mg/dm² pro polyamid, jsou v souladu s publikovanými údaji (Ashby,

II. Celková migrace složek obalových materiálů do olivového oleje vyjádřená jako hmotnost látek v mg uvolněných za uvedených podmínek z 1 dm² obalového materiálu – Overall migration of constituents of packaging materials into olive oil expressed as substance weight in mg released from 1 dm² of packaging material under the given conditions

Obalový materiál ¹	Olivový olej ³				n-heptan ⁴ 98 °C/ /120 min	Isooktan ⁵ 40 °C/ /120 min	95% etanol ⁶ 40 °C/ /10 dní
	40 °C/ /10 dní ⁷	100 °C/ /60 min	121 °C/ /60 min	50 °C/ /30 min			
Cutisin FF/M	–0,5	0,2	–	–	3,5	0,9	2,3
Cutisin FF/S	–0,3	–0,4	–	–	4,7	1,3	3,4
Polyamid (50µm)	0,5	–	–	–	3,5	1,1	9,1
Tefolan (36µm)	0,2	0,3	0,2	1,3	1,9	0,6	1,9
Mikroten (50µm)	1,8	2,5	–	–	4,1	2,7	2,6
Durofol (200µm)	1,3	–	–	–	5,0	1,5	1,1
Durofol (300µm)	1,7	–	–	–	4,5	1,4	0,8
LDPE	3,1	–	–	–	rozpouští se ⁸	5,5	2,3
PP (100µm)	1,4	1,7	3,2	–	3,9	1,9	2,1
Karton ² + PP	7,6	–	–	–	21,8	11,3	8,1

¹packaging material; ²paperboard; ³olive oil; ⁴n-heptane; ⁵isooctane; ⁶ethanol; ⁷days; ⁸it dissolves

1988; Kruijff et al., 1988; Baner et al., 1992) (záporné výsledky v tomto případě charakterizují nízkou úroveň globální migrace a jsou dány použitou metodikou).

Při migračních testech do olivového oleje jsme sledovali i změny simulantu během zkoušek a došli jsme k závěru, že jsou nevýznamné vzhledem k vlivu ostatních operací na chybu stanovení, např. dokonalostí extrakce oleje z testovaných vzorků. I při nejnepříznivějších podmínkách migračních zkoušek, tj. teplotách 121 a 150 °C, se obsah kyseliny olejové vztažený na celkový obsah mastných kyselin zvýšil maximálně o 2 % (w/w). Přesto jsme při zpracování výsledků změny složení simulantu zohlednili.

Je zřejmé, že hodnoty migrace do n-heptanu jsou podstatně větší než u potravinových simulantů a za použitých podmínek se již blíží celkovému množství extrahovatelných látek v testovaných vzorcích. Uvedené výsledky také potvrzují, že aplikace isooktanu za uvedených podmínek poskytuje hodnoty velmi blízké migraci do olivového oleje, a to i pro materiály nepolární, např. polyolefiny. To je umožněno zkrácenou dobou migrační zkoušky (2 hodiny proti 10 dnům). Pro nepolární materiály je teoreticky vhodný 95% etanol, u polárnějších fólií lze předpokládat interakci polymeru s modelovým roztokem usnadňující přechod složek obalového materiálu do simulantu. Z uvedených výsledků lze tento účinek dokumentovat porovnáním hodnot migrace do olivového oleje, isooktanu a 95% etanolu pro polyamidové fólie – např. pro umělé polyamidové střevo poskytlo použití etanolu devětkrát vyšší hodnoty v porovnání s isooktanem a téměř dvacetkrát vyšší než činil nález pro olivový olej.

Výsledky stanovení specifické migrace ftalátů z fólie Tefolan do vodných simulantů (tab. III) odpovídají podobným údajům v literatuře – podle podmínek stanovení migrace se uvolněná množství kyseliny tereftalové pohybují v množstvích až 25 $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^2$ pro destilovanou vodu, 35,3 $\mu\text{g}/\text{dm}^2$ pro roztok etanolu a až téměř 50 $\mu\text{g}/\text{dm}^2$ pro 3% kyselinu octovou (Steiner, 1990; Tsaj a et al., 1989). V souladu s publikovanými údaji je nízký i nález uvolněné kyseliny isoftalové.

III. Migrace isomerů kyseliny ftalové z fólie Tefalon do vodných modelových náplní – Migration of phthalic acid isomers from Tefalon films into water simulants

Podmínky migrace ¹	Modelový roztok ²	Tereftalát ³	Ftalát ⁴	Isoftalát ⁵
		[$\mu\text{g}/\text{dm}^2$]		
40 °C/10 dní ⁵	voda ⁷	3,0	7,6	0,2
	3% kyselina octová ⁸	13,6	11,2	4,9
	15% etanol ⁹	2,1	5,4	0,2
Teplota varu ⁶ /60 min	voda	4,5	17,2	0,0
	3% kyselina octová	3,6	18,2	0,0
	15% etanol	3,2	10,6	0,2

¹conditions of migration; ²water simulant; ³terephthalate; ⁴phthalate; ⁵isophthalate; ⁶days; ⁷boiling temperature

Literatura

- ASHBY, R.: Migration from polyethylene terephthalate under all conditions of use. Food Addit. Contam., 5, 1988: Supplement 1, 485–492.
- AHVENAINEN, R. – LUIKKONEN LILJA, H. – KIVIKATAJA, R.L.: Food packages in microwave oven heating. Association of Packing Technology and Research, PTR. Report No. 21, Espoo 1988.
- BANER, A. – BIEBER, W. – FIGGE, K. – FRANZ, R. – PIRINGER, O.: Alternative fatty food simulants for migration testing of polymeric food contact materials. Food Addit. Contam., 9, 1992: 137–148.
- KRUIJF, N., de – RIJK, M. A. H.: Isooctane as fatty food simulant: possibilities and limitations. Food Addit. Contam., 5, 1988: Supplement 1, 467–483.
- POKORNÝ, J. – DAVIDEK, J.: Analýza potravin, část B – Senzorická analýza. [Skripta.] Praha, VŠCHT 1990: 18.
- STEINER, I.: Untersuchungen über das Migrationsverhalten von Monomeren aus Polyterephthalsäureestern. Deuts. Lebensm.-Rundsch., 86, 1990: 182–185.
- TICE, P. A.: Migration from packaging into food. Brit. Food J., 94, 1992: 27–30.
- TSAKA, T. – STEINER, I. – WASHÜTTL, J. – KROYER G.: Über die Wirkung von Mikrowellen auf Koch- und Bratfolien aus Polyterephthalsäureestern. Deut. Lebensm.-Rundsch., 85, 1989: 213–216.
- Council Directive 82/711/EEC z 18. října 1982.
- Council Directive 85/572/EEC z 19. prosince 1985.

Došlo 20. 7. 1994

Kontaktní adresa:

Ing. Jaroslav Do biáš, CSc., Vysoká škola chemicko-technologická,
Ústav konzervace potravin a technologie masa, Technická 5, 166 28 Praha 6,
Česká republika, tel.: 02/2435 3083, fax: 02/311 99 90

HEAD SPACE STANOVENÍ ACETALDEHYDU V PET PREFORMÁCH A LAHVÍCH POUŽÍVANÝCH V ČESKÉ REPUBLICĚ *

Head Space GC Determination of Acetaldehyde in PET Preforms and Bottles used in the Czech Republic

Michal VOLDŘICH, Jaroslav DOBLÁŠ, Dušan ČURDA

*Institute of Chemical Technology – Department of Food Preservation and Meat
Technology, Praha, Czech Republic*

Abstract: Polyethylene phthalate (PET) polymers have been used for food packaging for many years. Typical applications of PET packaging are PET based laminates for vacuum, MA or CA packaging, packaging for “ready to eat” meals, packaging for microwave heating and the most important are the bottles for carbonated soft drinks, oil, vine, etc. In addition to their good mechanical and barrier properties, resistance to high temperatures, etc. the PET packaging materials are relatively safe concerning the risk of potential migration. From the polymer itself residual monomers (ethylene glycol or terephthalic and isophthalic acids), oligomers, catalyst residues and degradation products (acetaldehyde) may migrate (Ashby, 1988). Acetaldehyde is a thermal degradation product, which is formed during the melt polycondensation reaction and melt processing of PET. The level of acetaldehyde in PET preforms and bottles can be affected by conditions of its production (Gramiccioni et al., 1986; Dong et al., 1980). Free acetaldehyde is dissolved in polymer and slowly liberates, usual contents of acetaldehyde in fresh PET preforms vary from 0.5 to 10 ppm and depending upon the production conditions they could be higher (Dong et al., 1980; Eberhantinger et al., 1990). When bottles are filled acetaldehyde migrates into the beverage, the usual contents are from several tens to hundreds µg/l (Eberhantinger et al., 1990). In spite of its natural occurrence in various flavoured soft drinks (Coca-Cola, Pepsi-Cola, Seven Up, Fanta, etc.) acetaldehyde evolved from packaging can affect the flavour of beverage (Kim-Kang, 1990). The distinctive odour of acetaldehyde is very unpleasant in the case of mineral waters and soda, which are also often packed in PET bottles. The acetaldehyde contents in 22 PET preforms and bottles used by Czech producers of soft drinks were analysed. The modified procedures of Dong (1980) and Johnson Controls (1980b) were used. Bottle was cut (0.5 x 0.3 cm pieces), preform was cooled with liquid nitrogen and

* Práce byla provedena v rámci výzkumného úkolu č. 509/93/1099 financovaného GA ČR.

ground to power. Polymer was placed into head space vial, closed by septum and heated one hour at 130 °C. After at least 30 min of equilibration at 90 °C 0.5 to 1 ml of head space volume was analysed by GC. The capillary columns (HP1 50 m, 0.22 mm i.d., DB23 30, 0.33 mm i.d.) operated in low flow rate at 60 °C were used. Detection limit of the procedure was 0.5 ppM, relative standard deviation ($n = 5$) was lower than 5 %. The content of 22 analysed preforms varied from 1.8 to 10.2 ppM of acetaldehyde, the levels in bottles were slightly lower (about 78% of the average content of preforms).

polyethylene terephthalate; PET; migration; acetaldehyde; head space GC; food packaging

Abstrakt: Byla modifikována a ověřena metoda head space stanovení obsahu volného acetaldehydu v polyetylenotereftalátových preformách a lahvích: Vzorek polymeru nakrájený na kousky (lahev) nebo rozemletý po podchlazení kapalným dusíkem (preforma) je zahříván v uzavřené baňce 60 min při 130 °C, po nejméně 30 min vyrovnání koncentrace při 90 °C je 0,5 až 1 ml atmosféry head space dávkovačem nastříkáváno do kolony plynového chromatografu. Limit detekce metody je 0,5 mg volného acetaldehydu na 1 kg PET. Relativní směrodatná odchylka stanovení je menší než 5 %. Metoda byla použita k analýze 22 vzorků PET preforem a lahví, obsah volného acetaldehydu v preformách se pohyboval v rozmezí od 1,8 do 10,2 mg/kg, v lahvích od 1,2 do 6,8 mg/kg.

polyetylenotereftalát; PET; migrace; acetaldehyd; head space plynová chromatografie; balení potravin

Obalové materiály na bázi polyetylenotereftalátu (PET) jsou používány v kontaktu s potravinami mnoho let. PET je častou součástí laminovaných materiálů, kterým dává pevnost a bariérové vlastnosti. Typické jsou aplikace PET fólií pro vakuové balení, pro balení v modifikované a řízené atmosféře. Velmi dobrá tepelná stabilita je předurčuje pro široké spektrum obalů určených k záhřevu spolu s ohřívanou potravinou a je perspektivním materiálem pro obaly hotových jídel pro mikrovlnné trouby. Největší uplatnění nachází při výrobě obalů pro sycené nealkoholické nápoje, minerální vody, pivo, víno, jedlé oleje a další potraviny.

Výhodou PET je kromě zmíněných vlastností také zanedbatelný obsah aditivních látek (změkčovadel, antioxidantů nebo stabilizátorů) ve srovnání s dalšími plasty. Avšak vedle barviv a plnidel mohou být z PET obalů do potravin uvolňovány monomery (ethylenglykol, kyselina tereftalová a iso-

ftalová), oligomery kyselin, zbytky katalyzátorů a také degradační produkty, zejména acetaldehyd (Ashby, 1988).

K uvolňování acetaldehydu dochází tepelnou degradací během polykondenzační reakce při výrobě polymerů a může být tvořen také při jeho dalším zpracování, např. během tvarování polyetylentereftalátových preforem. Jeho tvorba je ovlivňována zejména technologickými podmínkami výroby preforem, např. teplotou zpracování, časovou prodlevou ve formě, rychlostí stříhu a stupněm předsušení polymeru (Gramiccioni et al., 1986; Dong et al., 1980). Vytvořený acetaldehyd je obsažen v polymeru, ze kterého postupně těká. Obvyklé obsahy volného acetaldehydu v preformách a lahvách se pohybují v rozmezí 0,5 až 10 mg/kg, při nedodržení správného postupu výroby však mohou být i vyšší (Dong et al., 1980; Eberhantinger et al., 1990).

Po naplnění lahví přechází acetaldehyd do obsahu. Nalezená množství acetaldehydu kolísají podle podmínek od jednotek do stovek μg na liter obsahu. Během skladování se postupně ustaví rovnováha mezi koncentrací volného acetaldehydu v obalu a v baleném nápoji. Při teplotě skladování 40 °C přejde asi 10 % obsaženého acetaldehydu do nápoje, při teplotě 60 °C to může být až 50 %. Vzhledem k organoleptickým vlastnostem acetaldehydu může být obalem negativně ovlivněna senzorická hodnota produktu. Riziko není významné v případě ochucených nápojů (Cocal-Cola, Pepsi-Cola, Seven Up, Fanta a další), u kterých je acetaldehyd přirozenou složkou jejich aroma, a to v koncentracích několikrát vyšších než je maximální množství uvolnitelné z obalu (Eberhantinger et al., 1990), avšak podle některých autorů (Kim-Kang, 1990) je kvalita vůně a chuti Coca-Coly a podobných nápojů velmi citlivá na zvýšení obsahu acetaldehydu migrací z obalu. Velmi nepříjemné důsledky však může mít v případě balení minerální a stolní vody, u nichž je pro svůj relativně nízký práh vnímání zdrojem příchuti.

Obsah volného acetaldehydu je proto důležitým kvalitativním parametrem PET granulátu, preforem a vyrobených lahví. Jeho obsah je vyjadřován různými způsoby v závislosti na použité metodě stanovení, nejčastěji se uvádí obsah volného acetaldehydu v polymeru, v případě čerstvě vyrobených lahví je sledováno množství uvolněného acetaldehydu do prázdné uzavřené láhve, případně je zjišťována migrace acetaldehydu do potravinového simulantu, nejčastěji destilované vody. Různým způsobům měření odpovídají i legislativní limity a maximální obsahy deklarované různými výrobci. U nás je maximální obsah acetaldehydu uveden v Návrhu doplnění výnosu č. 73

Ministerstva zdravotnictví, který mění a doplňuje směrnici 49/1978 o hygienických požadavcích na plasty a předměty přicházející do styku s potravinami (1992), doporučuje limitní obsah acetaldehydu max. 0,0005 % (5 mg/kg). Tato hodnota odpovídá limitům užívaným výrobcí, např. granulát pro výrobu preforem a lahví pro nápoje obsahuje méně než 3 mg acetaldehydu na 1 kg (A n o n y m, 1994). V případě obsahu migrujícího acetaldehydu do prázdné uzavřené lahve jiný výrobce deklaruje maximální průměrný obsah acetaldehydu v čerstvé bílé PET lahvi 3 mg/l (maximální koncentrace v jedné lahvi nesmí být vyšší než 4 mg/l) a v zelených PET lahvích průměrně 12 mg/l (max. 15 mg/l) (A n o n y m, 1980a).

Při stanovení volného acetaldehydu v PET granulátu, preformách a lahvích je vzhledem k nízkým koncentracím nejčastěji používána head space plynová chromatografie tuhých vzorků. Polymer je kryogenně (po zmrazení kapalným dusíkem) rozemlet a navážen do baňky opatřené septem. Následuje záhřev do 150 °C a vyrovnání koncentrací v tuhé a plynné fázi při teplotě pod 100 °C před analýzou plynovou chromatografií (A n o n y m, 1980b). D o n g et al. (1980) doporučují 1 hodinu záhřevu na 130 °C a alespoň 20 minut při 92 °C. Stejný postup použila v mírné modifikaci E b e r h a n t i n g e r o v á et al. (1990), přičemž kryogenní rozemletí nahradila nakrájením na kousky. Další modifikace postupu spočívají v použití purge and trap zařízení pracujícího při teplotách do 150 °C. Obecně se předpokládá, že vystavením PET materiálů záhřevu do 150 °C nedochází k další degradaci polymeru a je uvolněn pouze volný acetaldehyd.

V případě stanovení migrujícího acetaldehydu v prázdné lahvi je čerstvě připravená lahev ponechána 15 až 20 min vychladnout, pak je 20 s proplachována dusíkem a uzavřena víčkem opatřeným septem. Po 24 hodinách při teplotě 22 °C (po její předchozí evakuaci a naplnění atmosférou z lahve) je smyčkou 5 ml obsahu lahve dávkováno do plynového chromatografu (A n o n y m, 1983). Podobný postup je používán pro stanovení acetaldehydu v potravinových simulantech, přičemž nádobka přiměřeného objemu je z 50 % naplněna vzorkem simulantu a po dosažení rovnováhy je atmosféra nad simulantem analyzována plynovou chromatografií (např. E b e r h a n t i n g e r et al., 1990).

Ke stanovení acetaldehydu plynovou chromatografií jsou nejčastěji používány náplňové kolony s Porapakem Q; QS, Chromosorbem 101 a dalšími vysoce polárními stacionárními fázemi, aby byl retenční čas acetaldehydu dostatečný.

V předkládané práci je ověřen modifikovaný postup stanovení volného acetaldehydu podle autorů Dong et al. (1980) a Eberhantinger et al., (1990) a je provedena analýza PET preforem a lahví používaných v České republice.

MATERIÁL A METODY

Byly analyzovány vzorky preforem a čerstvě vyrobených lahví používaných tuzemskými výrobci nápojů k balení stolní vody a nealkoholických nápojů. PET preforma byla ponořena do kapalného dusíku, po dostatečném podchlazení (ukončení bouřlivého varu dusíku) byla zkřehlá preforma umleta na prach s maximem velikosti částic kolem 500 μ . PET lahev byla nastříhána na kousky (cca 0,3 x 0,5 cm). Vzorek asi 3 g polymeru byl navážen do baňky objemu 10 ml, baňka byla uzavřena septem a hliníkovým uzávěrem a zahřívána 60 min při 130 °C. Poté byla ponechána nejméně hodinu v lázni head space autosampleru temperované na 90 °C a 1 ml atmosféry v nádobce byl nastříkovan do kolony plynového chromatografu. Podmínky separace: kolona 50 m, 0,22 mm, HP1 (30 m, 0,33 mm, DB 23), FID, teplota nástřiku 150 °C, detektoru 240 °C, kolony 60 °C, tlak nosného plynu 60 kPa, dělicí poměr split nástřiku 1:4. Kalibrace byla provedena metodou kalibrační přímky. Baňky s navázkou PET byly zahřívány otevřené 2 hod při 130 °C, po vychladnutí byly uzavřeny septem a stříkačkou bylo do každé přidáno 10 až

I. Reprodukovatelnost stanovení acetaldehydu v PET preformách – Reproducibility of acetaldehyde determination in PET preforms

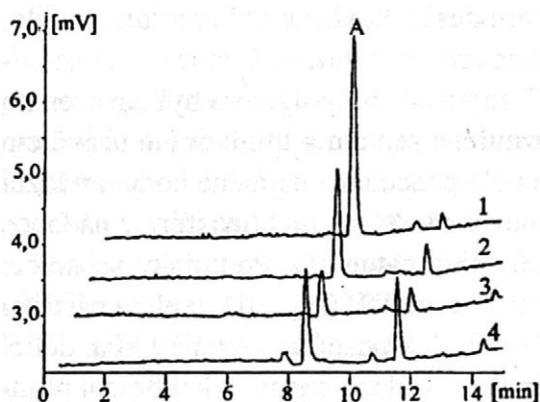
Analýza č. ¹	Obsah acetaldehydu ² [mg.kg ⁻¹]
1	2,51
2	2,55
3	2,38
4	2,62
5	2,44
Průměr ³	2,50
Směrodatná odchylka ⁴	0,08
Relativní směrodatná odchylka ⁵ [%]	3,35

¹analysis no.; ²acetaldehyde content; ³average; ⁴standard deviation; ⁵relative standard deviation

50 ml vodného roztoku acetaldehydu, připraveného z čerstvě predestilovaného acetaldehydu (Aldrich).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Proti citovaným pracím jsme použili kapilární kolony (nepolární HP1 a středně polární DB23), ale snížením průtoku plynu a použitou teplotou bylo na obou kolonách dosaženo dostatečného retenčního času acetaldehydu. Acetaldehyd byl za použitých podmínek eluován za mrtvým píkem (obr. 1).

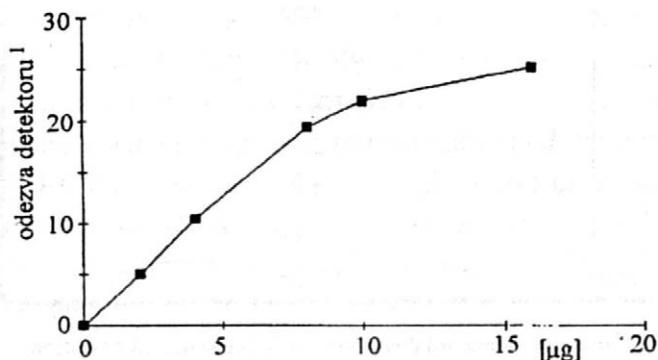


1. Příklad chromatogramů standardních vzorků (1, 2, 3) a reálného vzorku PET preformy (4) – Chromatograms of Head space determination of acetaldehyde, standard samples (1, 2, 3), PET preform sample (4)

Kalibrační křivka (obr. 2) byla lineární do 10 mg acetaldehydu v baňce ($r = 0,9989$).

Reprodukovatelnost postupu byla ověřována analýzou pěti paralelních vzorků připravených z jedné preformy. Výsledky jsou uvedeny v tab. I.

Postup byl použit ke stanovení obsahu preforem a lahví z různých zdrojů, celkem bylo analyzováno 22 vzorků preforem a 22 vzorků lahví (obr. 3 a 4),



2. Kalibrační křivka head space stanovení acetaldehydu [μg] v PET preformách a lahvích – Calibration curve of head space determination of acetaldehyde content [μg] in PET preforms and bottles

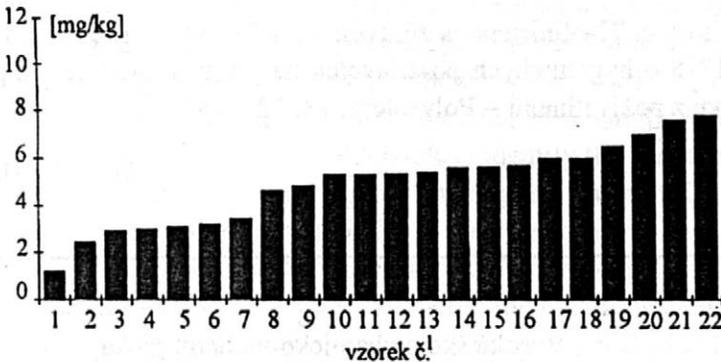


¹sample no.

3. Obsah acetaldehydu [mg/kg] nalezený analyzovaných vzorcích PET preforem – Acetaldehyde content [mg/kg] determined in analysed samples of PET preforms

výsledné hodnoty jsou průměrem tří paralelních stanovení, přičemž relativní směrodatná odchylka nepřevýšila 5 %. Zjištěné hodnoty odpovídají lepšímu průměru obsahů citovaných v literatuře (Eberhantinger et al., 1990; Dong et al., 1980 apod.). Z obrázků je zřejmé, že analyzované lahve byly vyrobeny z preforem ze stejných šarží. Při tvarování lahví dochází k mírnému snížení obsahu acetaldehydu jeho vytěkáním, analyzované čerstvě vyrobené lahve obsahovaly v průměru asi 78 % obsahu acetaldehydu v preformách (6,32 mg/kg v preformách a 4,89 mg/kg v lahvích).

Při analýze některých preforem byly stanoveny mírně zvýšené hodnoty u hrdla, zřejmě v důsledku vyššího rizika přehřátí během tvarování. Další analýzou většího souboru vzorků však nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v distribuci acetaldehydu v preformách.



¹sample no.

4. Obsah acetaldehydu [mg/kg] nalezený v analyzovaných vzorcích PET lahví – Acetaldehyde content [mg/kg] determined in analysed PET bottles

Limit detekce metody byl za použitých podmínek asi 0,5 mg acetaldehydu v baňce, tj. dostatečný pro analýzu obsahu volného acetaldehydu v polymeru.

L i t e r a t u r a

ANONYM: A Standard method for determining the 24 hour airspace acetaldehyde content of freshly blown PET bottles. Appendix A, Part III. Johnson Controls Plastics N.V. 1980a.

ANONYM: Methods of Analysis of Acetaldehyde in Preforms. Johnson Controls Plastics N. V. 1890b.

ANONYM: Test Method. Residual acetaldehyde by head space GC. SN° 177187, Carolina Eastman Company, Columbia, South Carolina 1983.

ANONYM: Data sheet of the particular physical properties of Tairilin PET FCB4®. Nan Ya Plastic Corporation, Taiwan 1994.

ASHBY, R.: Migration from polyethylene terephthalate under all conditions of use. Food Aditiv. Contam., 5, 1988: 485–492.

DONG, M. – DIEDWARD, H. – ZITOMER, F.: Determination of residual acetaldehyde in polyethylene terephthalate bottles, preforms, and resins by automated head space gas chromatography. J. Chromatogr. Sci., 18, 1980, 242–246.

EBERHARTINGER, S. – STEINER, I. – WASHÜTTL, J. – KROYER, G.: Untersuchungen zur Migration von Acetaldehyd aus Polyethylenterephthalat-Flaschen für kohlenensäurehaltige Erfrischungsgetränke. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 191, 1990: 286–289.

GRAMICIONI, L. – MILANA, M. R. – DiMARZI, S. – LORUSSO, S.: La migrazione dell'acetaldeide da contenitori in polietilenterestato (Pet): aspetti tecnologici e chimici. Industrie delle bevande. 15, febbraio 1986: 1–4.

KIM-KANG, H.: Volatiles in packaging materials. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 29, 1990: 255–271.

Návrh doplnění výnosu č. 73 Ministerstva zdravotnictví ČR, kterým se mění a doplňují směrnice 49/1978 o hygienických požadavcích na plasty a předměty z plastů přicházející do styku z požívatiny – Polyestery. 18. 12. 1992.

Došlo 10. 11. 1994

Kontaktní adresa:

Ing. Michal Voldřich, CSc., Vysoká škola chemicko-technologická,
Ústav konzervace potravin a masa, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika,
tel.: 02/2435 3012, fax: 02/311 99 90

**HORDEINOVÉ SIGNÁLNÍ GENY POVOLENÝCH ČESKÝCH
A SLOVENSKÝCH ODRŮD JEČMENE SETÉHO (*Hordeum vulgare* L.)**

**Hordein Signal Genes of Certified Czech and Slovak Varieties
of Barley (*Hordeum vulgare* L.)**

Antonín ŠAŠEK, Jana BRADOVÁ, Jiří ČERNÝ¹

Research Institute for Plant Production, Praha-Ruzyně;

¹*Czech Agricultural University, Praha-Suchbát, Czech Republic*

Abstract: Model electrophoretic hordein spectra of 25 certified varieties of spring barley and 10 certified varieties of winter barley have been compiled. Twenty-five grains of each variety were separately assessed by the method of hordein vertical electrophoresis in columns of starch gel with Al-lactate buffer at pH 3.1 with 2 M urea per 1 liter of buffer (Pomorčev et al., 1985). Hordein allelic blocks were singled out of the electrophoretic spectra of hordeins and they were characterized by the number of zones, their relative mobility (REM) and staining intensity (Pomorčev et al., 1985). A degree of hordein polymorphism and the corresponding genetic constitution of evaluated varieties were determined. Out of the 25 spring barley varieties, only eight varieties are pure lines according to the hordein composition, ten varieties are populations constituted by one main and one or several minor lines, one variety is constituted by two main lines and three varieties comprise two main and several minor hordein lines. A high degree of hordein polymorphism was also determined in the varieties of winter barley. Out of the ten evaluated varieties, only three are hordein homogeneous, they are pure lines, four varieties are populations constituted by one main and one or several minor lines. The remaining variety Sorna contains six lines in total. It is possible to deduce from the genotypes of hordein lines of the evaluated varieties that in most cases the components of these varieties are sister lines. The catalogue of hordein electrophoretic spectra and/or catalogue of singled out sets of allelic hordein blocks of zones enable to identify the varieties in a grain sample of seed and mercantile lots. Due to lower genetic variability of hordeins some varieties (7 varieties of spring barley, 3 varieties of winter barley) have identical hordein spectra and cannot be discriminated by hordein electrophoresis. The certified varieties of winter barley can be reliably discriminated from the varieties of spring barley by hordein electrophoresis.

barley; hordeins; starch gel electrophoresis; allelic hordein blocks; genetic constitution of varieties; identification of varieties

Abstrakt: Metodou vertikální elektroforézy v sloupcích škrobového gelu s Al-laktátovým pufrům byla sledována skladba hordeinů 25 povolených odrůd ječmene jarního a 10 povolených odrůd ječmene ozimého. Získaná elektroforetická spektra byla geneticky interpretována v podobě alelických hordeinových bloků. Pomocí jednotlivých alel hordeinových genů byla stanovena genetická struktura hodnocených odrůd jako čistých linií či populací a stupeň homozygotnosti hordeinových genů. Vypracovaný katalog hordeinových elektroforetických spekter a jemu odpovídající katalog souborů hordeinových alelických bloků umožňuje identifikaci odrůd jarního a ozimého ječmene ve vzorku semen.

ječmen setý; hordeiny; elektroforéza ve škrobovém gelu; alelické hordeinové bloky; genetická struktura odrůd; identifikace odrůd

Hordeinové signální geny manifestované na elektroforetickém spektru hordeinových bílkovin zrna ječmene představují genetické markery použitelné pro hodnocení genetické struktury odrůd ječmene, pro identifikaci jednotlivých odrůd ječmene i pro markerování některých hospodářských vlastností ječmene (Sozinov, 1985; Pomorcev et al., 1985; Sozinov et al., 1989; Černý, Šašek, 1988; Šašek et al., 1990a, b; Černý et al., 1993a, b).

Z metod elektroforézy hordeinů požívaných pro výše uvedené markerovací účely se vyznačuje metoda elektroforetické analýzy ve škrobovém gelu (Sozinov, Popereľja, 1978) schopností identifikovat v získaném elektroforetickém spektru hordeinů jednotlivé hordeinové bloky zón, odpovídající jednotlivým alelám hordeinových lokusů.

Vypracování vzorových elektroforetických spekter hordeinů jednotlivých povolených odrůd ječmene jarního a ječmene ozimého, získaných škrobovou elektroforézou, umožňuje genetickou interpretaci zjištěných markerovacích účinků hordeinových genů při identifikaci odrůd, stanovení odrůdové pravosti a odrůdové čistoty dávek osiv a merkantilu a při markerování hospodářsky významných znaků a vlastností ječmene.

MATERIÁL A METODY

Bylo hodnoceno 25 povolených odrůd ječmene jarního a 10 povolených odrůd ječmene ozimého (tab. I).

Pro elektroforetické analýzy hordeinů byly použity ramšové vzorky osiv dodaných ÚKZÚZ v roce 1993.

Z průměrných vzorků osiva (po 100 g) bylo odebráno náhodně pro elektroforetické analýzy hordeinů 25 zrn. Hordeinová elektroforetická spektra byla získána částečně upraveným postupem vertikální elektroforézy ve sloupcích škrobového gelu s Al-laktátovým pufrem o pH 3,1 s 2 M močoviny na 1 litr pufru (Sozinov, Popereľja, 1978; Šašek, Černý, 1983; Pomorcev et al., 1985). Intenzita zbarvení zón byla hodnocena stupnicí: plné vykrytí, husté šrafování, řídké šrafování, nevykrytí, čárkování (odpovídá číselným hodnotám 5, 4, 3, 2, 1).

Jednotlivé hordeinové zóny byly charakterizovány jejich relativní elektroforetickou mobilitou (REM). Hodnoty REM byly stanoveny ve vztahu ke gliadinové zóně s REM 55,0, determinované lokusem Gld 1D (Sozinov, 1985). K manifestaci gliadinové zóny s REM 55,0 byla použita směs jednoho zrna ječmene a jednoho zrna pšenice odrůdy Mironovská 808.

Alelické bloky zón hordeinů HRD-A, HRD-B, HRD-F, HRD-D, HRD-E a HRD-G byly vyčleněny z elektroforetických hordeinových spekter podle katalogu alelických hordeinových bloků, získaných pomocí škrobové gelové elektroforézy (Pomorcev et al., 1985). Vyčleněné hordeinové alelické bloky jsou charakterizovány mobilitou jednotlivých zón (hodnotami REM) a intenzitou zbarvení zón.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Získaná elektroforetická spektra hordeinových bílkovin jsou představena v grafu (obr. 1). Pro genetickou interpretaci získaných výsledků jsou tato spektra transformována do podoby souborů vyčleněných alelických hordeinových bloků zón, uvedených v tab. I. Tab. II charakterizuje jednotlivé alelické hordeinové bloky.

Genetická struktura hodnocených odrůd

Pomocí signálních hordeinových genů lze hodnotit genetickou strukturu odrůd ječmene jako čisté linie homogenní ve skladbě hordeinů, či jako populace hordeinově polymorfní. Počet hordeinových linií a jejich relativní četnost v odrůdové populaci jsou významné pro identifikaci odrůd hodnocených ve vzorku elektroforetickou analýzou hordeinů. Některé odrůdy se totiž neliší spektrem hordeinových linií, ale jejich podílem v odrůdě (Šašek et al., 1990a, b).

I. Soubory alelických hordeinových bloků hodnocených jarních a ozimých odrůd povoleného sortimentu ječmene setého - Sets of allelic hordein blocks in the evaluated spring and winter varieties of the certified collection of barley varieties

Odrůda ¹	Označení nšl. v SOP ²	Linie ³		HRD lokus a alela ⁴			Minoritní HRD geny ⁵
		n	%	A	B	F	
Jarní odrůdy⁶							
Akcent	ST-145	A	94	12	21	1	(E)
Bonus	HE-1626	A	97	2	25	1	
Donum	SK-3062	A	41	4	45	3	
		B	28	2	29	3	E
		C	18	2	45	3	E
Forum	KM-Br-S2	A	98	N1	8	2	
Galan	SK-2611	A	100	2	N	2	
Heran	HE-4098	A	70	2	47	1	E
		B	23	2	47	1	
Horal	SK-k-1106-15	A	100	12	21	1	
Jarek	KM-246	A	100	2	19	1	
Jaspis	HE-2078	A	100	21	25	1	
Jubilant	SK-2777	A	92	N2	29	3	
		(B)	8	23	29	3	
Korál	HE-748	A	100	32	21	0	
Kredit	HE-1440	A	82	18	52	1	
Krystal	HE-950	A	100	32	21	0	
Ladík	KM-743	A	95	23	21	1	(G)
Malvaz	KM-UH-R-1809	A	100	2	17	3	
Mars	ST-6194	A	100	2	7	2	
Novum		A	95	32	21	0	
Orbit	SK-1775-12	A	91	21	25	1	
Perun	HE-2591	A	78	2	47	1	
		B	22	2	47	1	E
Profit		A	100	2	25	1	

Pokr. tab. I – Table I continue

Odrůda ¹	Označení nšl. v SOP ²	Linie ³		HRD lokus a alela ⁴			Minoritní HRD geny ⁵
		n	%	A	B	F	
Rubín	HE-902	A	92	4	45	3	
Sladko	SK-2790	A	89	12	21	1	(G)
		B	11	12	21	1	(E)(G)
Stabil	SK-3081	A	49	2	47	1	
		B	13	N1	47	1	
		C	27	21	25	1	
		D	8	2	25	1	
Svit	SK-3045	A	40	2	47	1	E
		B	60	2	47	1	
Terno	KM-Br-G-1114	A	57	21	17 ^x	2	
		B	35	2	17 ^x	2	
Ozimé odrůdy⁷							
Borwina	(SRN)	A	100	14	3	2	
Kamil	KM-2110	A	100	14	3	2	
Kompolti 4	(Maďarsko)	A	100	18	11	2	
Kromoz	KM-908	A	53	3	N1	1	
		B	37	3	N1	1	(C)
Lunet	LU-16	A	100	14	3	2	
Nebelia	HVW-453	A	90	3	N1	1	(C)
Okal	LU-27	A	100	3	N1	1	
Sigra	(SRN)	A	93	3	N1	1	
		B	7	3	N1	1	(C)
Sorna	HVW-342	A	45	3	3	2	
		B	38	2	21	1	(G)
		C	17	2	21	1	(G) D
Marinka	(Nizozemsko)	A	100	3	3	2	

¹variety; ²designation of new breeding in State Variety Trials; ³line; ⁴HRD locus and allele; ⁵minorit HRD genes; ⁶spring varieties; ⁷winter varieties

II. Charakteristika jednotlivých alelických hordeinových bloků zón – The characteristics of the particular allelic hordein blocks of zones

HRD alelický blok ¹	Charakteristika, parametry bloků (počet zón, REM zón) ²
A-2	28,0(4)–29,5(2–3)–31,0(5)–35,0(4)–39,0(5)
A-3	23,5(3)–27,0(2)–30,0(4)–31,0(5)–34,0(1)–36,0(5)–37,5(5)–42,0(5)
A-4	28,0(4)–29,5(2)–31,0(5)–36,5(4)
A-9	28,0(1–2)–29,5(3)–31,0(5)–35,0(4)–39,0(5)
A-12	27,0(3)–31,0(5)–34,0(5)–35,0(5)
A-14	27,0(3)–31,0(5)–33,0(1)–36,5(5)–37,5(4)–41,5(5)–42,0(5)–48,5(3)–50,5(3)–53,0(3)
A-18	27,0(3)–31,0(5)–34,5(5)–37,5(4)
A-23	27,0(3)–31,0(4)–32,0(5)–35,5(5)–40,0(4)–41,0(5)
A-32	28,0(4)–29,5(3)–31,0(5)–33,5(3)–35,0(4)–36,0(3)–39,0(5)
A-N1	25,0(2)–27,0(3)–30,0(4)–31,0(5)–34,5(5)–36,0(1)–38,5(2)–39,5(1)–41,5(2)
A-N2	25,0(2)–27,0(3)–30,0(4)–31,0(5)–34,5(5)–36,0(1)–37,0(2)–39,5(2)
B-3	62,0(1)–66,0(3)–69,5(4)–70,0(5)
B-7	62,0(1)–66,0(4)–69,5(4)–70,0(1)–75,0(2)
B-8	62,0(1)–66,0(3)–69,5(4)–70,0(5)–85,0(3)
B-11	62,0(4)–64,5(3)–66,0(3)–69,0(1)–71,0(3)
B-17	60,5(4)–61,5(4)–67,5(1)–69,5(2)–72,5(3)–79,5(2)–86,5(4)
B-17 ^x	60,5(4)–61,5(4)–67,5(3)–69,5(2)–72,5(3)–76,5(1)–80,5(1)–86,5(4)
B-19	58,0(2)–62,0(5)–66,5(3)–67,5(2)–71,5(2)–75,0(2)
B-21	62,5(1–2)–66,0(5)–69,0(2)–71,0(2)
B-25	58,5(4)–62,0(4)–64,5(1)–67,0(1)–70,5(3)–75,5(2)–79,5(2)–82,5(3)
B-25 ^x	58,5(4)–62,0(4)–64,5(2)–67,0(3)–70,5(3)–75,5(2)–79,5(2)–82,5(3)
B-29	60,5(4)–61,5(4)–68,0(3)–74,0(3)–83,0(3)–86,0(2)
B-(32)	59,0(5)–65,0(4)–70,0(1)–71,5(1)–78,0(1)–82,5(5)
B-45	56,5(2)–60,5(4)–61,5(4)–65,5(2)–69,5(2)–74,0(4)–77,5(2)–78,5(1)–86,0(2)
B-47	60,0(3)–61,5(3)–65,0(5)–68,5(3)–72,0(2)–81,5(4)
B-52	55,0(3)–61,5(3)–63,0(4)–66,5(3)–70,5(3)
B-N	dosud nekatalogizován ³
B-N1	62,0(2)–63,5(3)–67,5(2)–69,0(4)–71,0(1)–73,5(2)–74,5(2)–78,5(2)
F-1	86,0(4)

Pokr. tab. II – Table II continue

HRD alelický blok ¹	Charakteristika, parametry bloků (počet zón, REM zón) ²
F-2	88,0(3-4)
F-3	90,0(3-4)
F-N	dosud nekatalogizován
E-1	36,5(2)
G-1	76,5(2)
C-1	39,0(2)

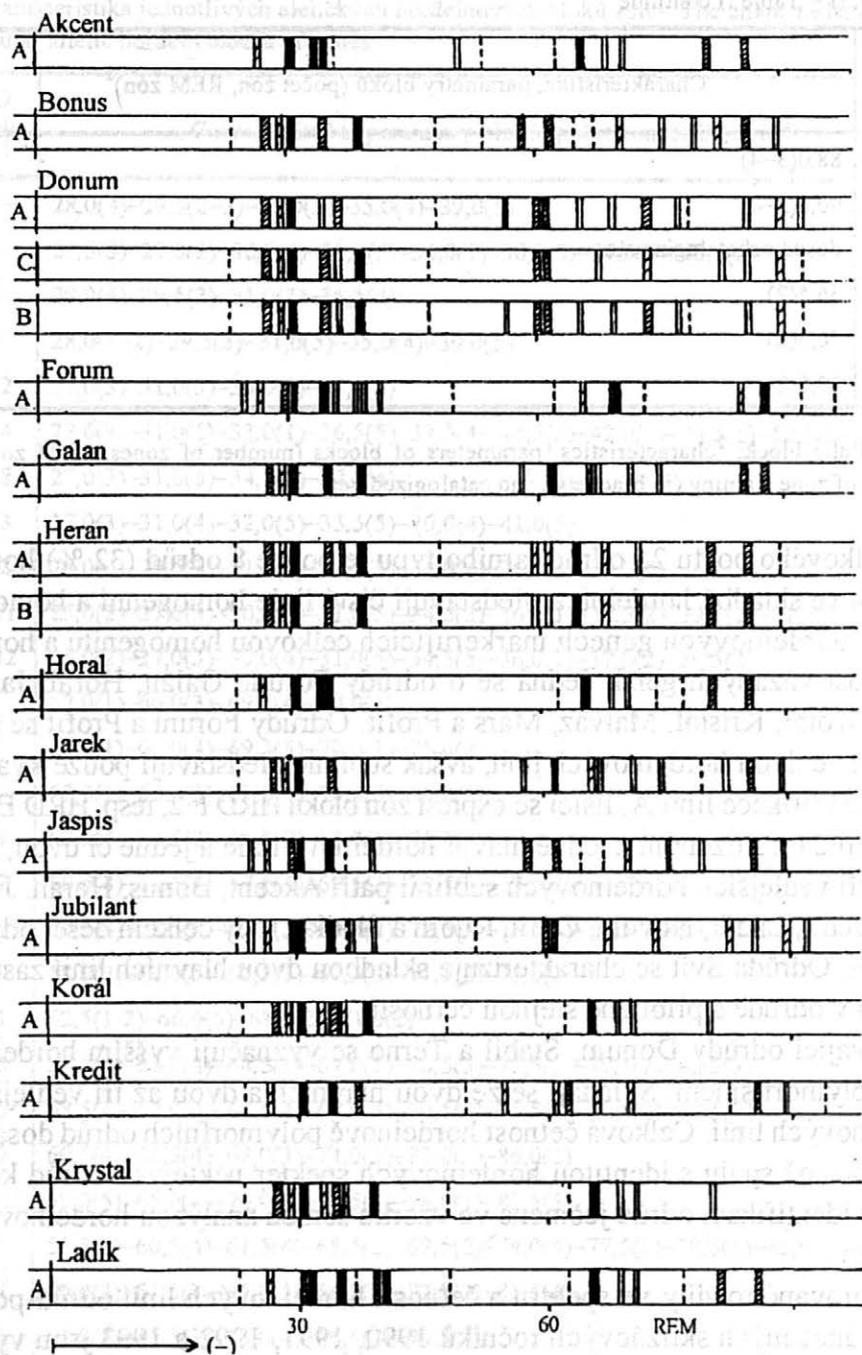
¹HRD allelic block; ²characteristics, parameters of blocks (number of zones, REM zones), intensity of zone staining (in brackets); ³no catalogized yet

Z celkového počtu 25 odrůd jarního typu je pouze 8 odrůd (32 %) homogenních ve skladbě hordeinů a představují čisté linie homogenní a homozygotní v hordeinových genech markerujících celkovou homogenitu a homozygotnost vázaných genů. Jedná se o odrůdy Forum, Galán, Horal, Jarek, Jaspis, Korál, Kristal, Malvaz, Mars a Profit. Odrůdy Forum a Profit se sice skládají ze dvou hordeinových linií, avšak sublinie představují pouze kvantitativní modifikace linií A, lišící se expresí zón bloku HRD F 2, resp. HRD B 25.

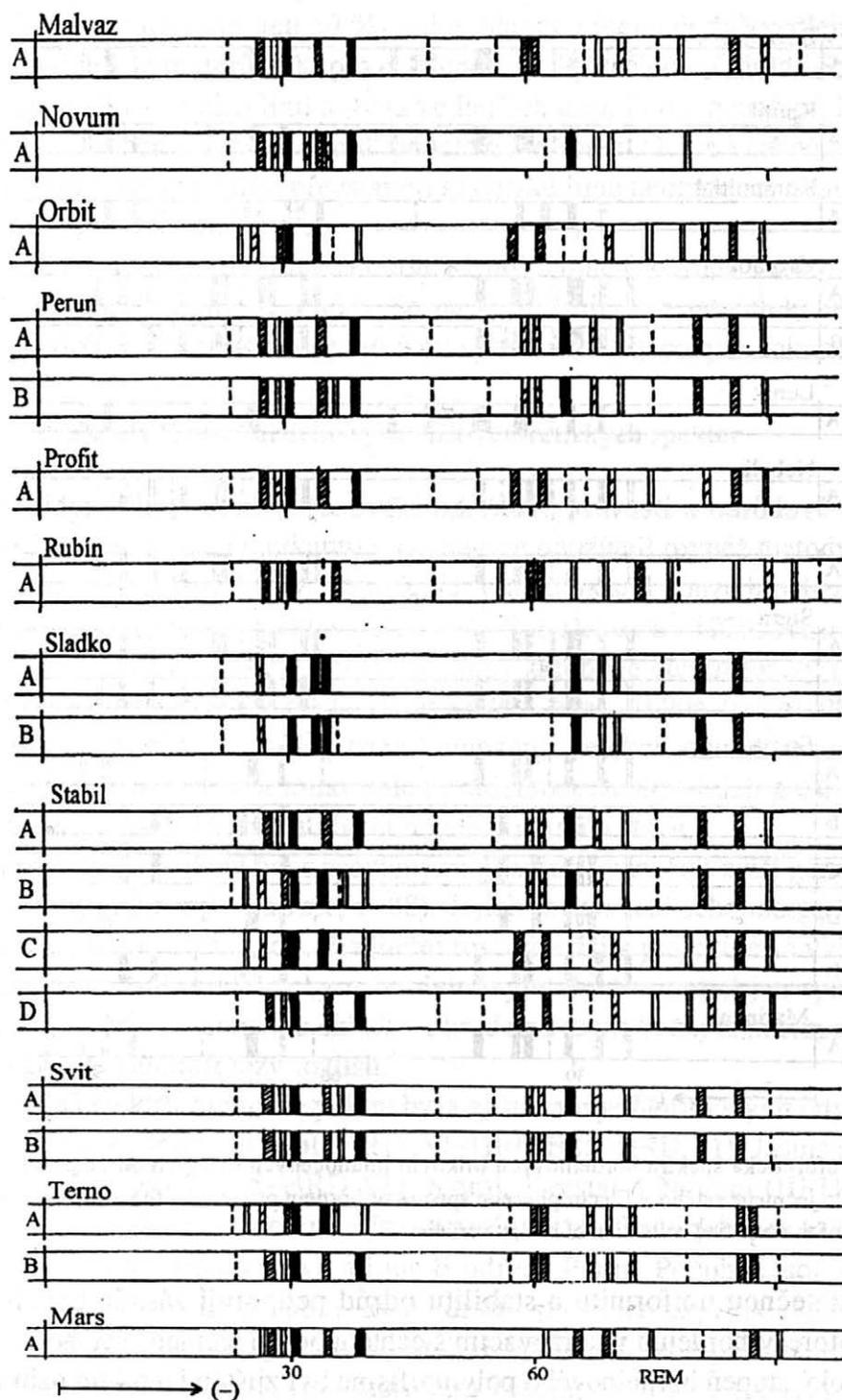
K odrůdám složeným z jedné hlavní hordeinové linie a jedné či dvou, případně tří vedlejších hordeinových sublinií patří Akcent, Bonus, Heran, Jubilant, Kredit, Ladík, Novum, Orbit, Rubín a Sladko, tedy celkem deset odrůd, tj. 40 %. Odrůda Svit se charakterizuje skladbou dvou hlavních linií zastoupených v odrůdě s přibližně stejnou četností.

Zbývající odrůdy Donum, Stabil a Terno se vyznačují vyšším hordeinovým polymorfismem. Skládají se ze dvou hlavních a dvou až tří vedlejších hordeinových linií. Celková četnost hordeinově polymorfních odrůd dosahuje 68 %, což spolu s identitou hordeinových spekter některých odrůd komplikuje identifikaci odrůd ječmene ve vzorku semen analýzou hordeinových bílkovin.

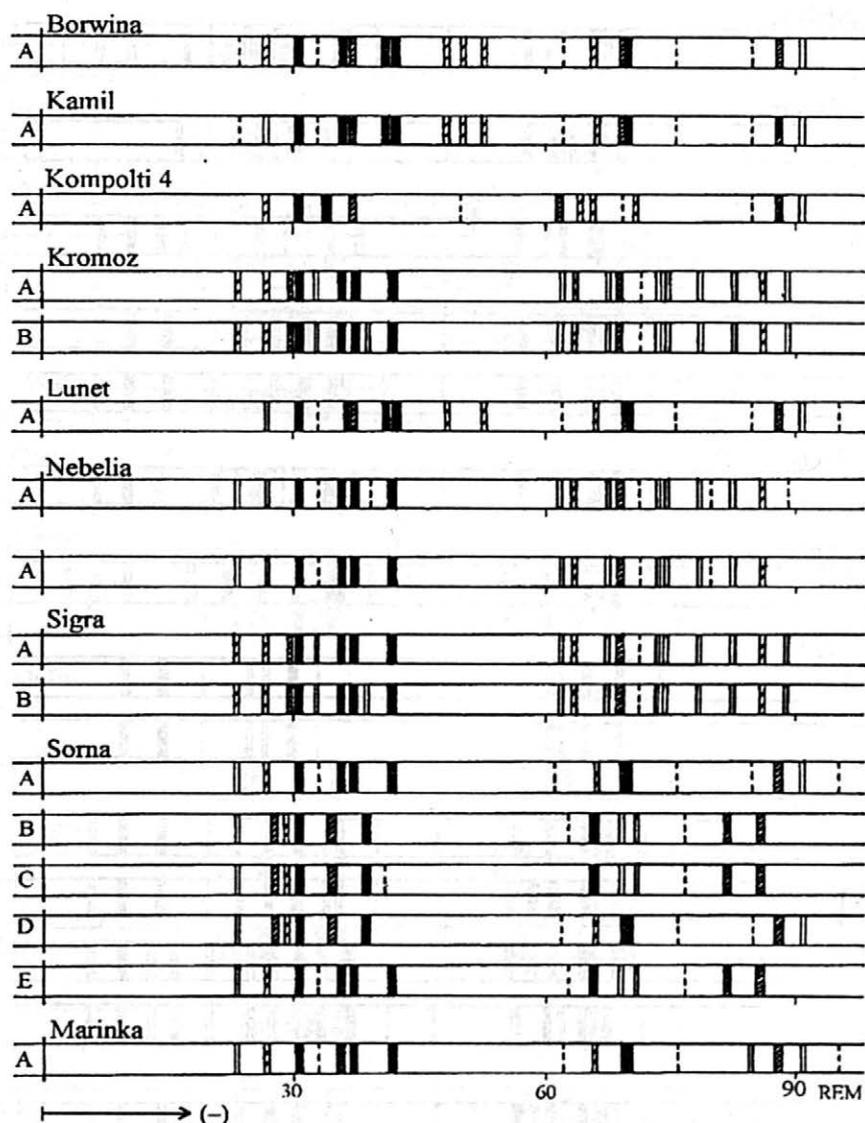
Pozorované rozdíly ve spektru a četnosti hordeinových linií odrůd-populací hodnocených sklizňových ročníků 1990, 1991, 1992 a 1993 jsou vyvolány nepoužíváním elektroforézy hordeinů v genetické kontrole jednotlivých cyklů udržovacího šlechtění těchto odrůd. Požadavky odrůdového zkušebnictví a zejména požadavky tzv. právní ochrany odrůd podle směrnic UPOV



1. Elektroforetická spektra hordeinových bílkovin hodnocených jarních odrůd povoleného varieties of the certified collection of barley varieties



sortimentu ječmene setého – Electrophoretic spectra of hordein proteins of the evaluated spring



2. Elektroforetická spektra hordeinových bílkovin hodnocených ozimých odrůd povoleného sortimentu ječmene setého – Electrophoretic spectra of hordein proteins of the evaluated winter varieties of the certified collection of barley varieties

na dostatečnou uniformitu a stabilitu odrůd podporují zásadu používání elektroforézy hordeinů v udržovacím šlechtění odrůd ječmene setého.

Vysoký stupeň hordeinového polymorfismu byl zjištěn i u odrůd ozimého ječmene. Z deseti povolených odrůd pouze odrůdy Borwina, Kamil, Kompolti-4, Lunet a Marinka jsou hordeinově homogenní, představují čisté linie.

Jejich četnost tedy činí jen 50 %. Jednu hlavní a jednu či dvě vedlejší linie hordeinů vykazují odrůdy Kromoz, Nebelia, Okal a Sigr. Odrůda Sorna se skládá ze čtyř hlavních linií a dvou vedlejších linií. Podle genotypů hordeinových linií hodnocených odrůd–populací lze soudit, že ve většině případů komponenty těchto odrůd představují sesterské linie pocházející ze stejného křížení, hybridní kombinace.

Linie B odrůdy Orbit, linie D odrůdy Rubín, linie C odrůdy Terno, linie B odrůdy Nebelia a linie A odrůdy Sorna se odlišují od ostatních komponent svých odrůd zcela odlišnou genetickou výbavou hordeinových lokusů.

Odrůdová specifičnost hordeinových elektroforetických spekter

Pro identifikaci odrůd, stanovení odrůdové pravosti a odrůdové čistoty vzorků, dávek a osiv i merkantilu ječmene se používají rovněž metody polyakrylamidové elektroforézy, umožňující však doposud pouze biochemickou interpretaci získaných spekter (Günzel, Fischbeck, 1979; Hauzer et al., 1987; Černý, Šašek, 1987). Postupy škrobové elektroforézy (Sozinov, 1985; Pomorcev et al., 1985; Šašek et al., 1990a, b) jsou však pro identifikaci odrůd vhodnější, neboť umožňují detekci jednotlivých alelických genů majoritních a minoritních hordeinových signálních genů včetně stanovení jejich homozygotního či heterozygotního stavu.

Hordeiny se ve srovnání s pšeničnými gliadiny vyznačují nižší genetickou variabilitou (Černý, Šašek, 1988). Jejich rozlišovací schopnost při identifikaci odrůd je proto proti gliadinům rovněž nižší a projevuje se vyšší četností odrůd, linií s identickým hordeinovým elektroforetickým spektrem. Takové odrůdy s identickou skladbou hordeinů nelze běžným postupem jednorozměrné elektroforézy rozlišit.

Shodná elektroforetická spektra byla zjištěna u jednorozměrných odrůd jarního ječmene Bonus a Profit (HRD A2–HRD B25–HRD F1), Jaspis a Orbit (HRD A2 1–HRD B25–HRD F1), Koral, Krystal a Novum (HRD A32–HRD B2 1–HRD F0). Identická jsou rovněž elektroforetická spektra hordeinů linií A odrůd Heran a Svit a linie B odrůdy Perun. Podobně jsou shodné linie A odrůd Donum a Rubín. Tyto odrůdy–populace lze však elektroforézou hordeinů rozlišit zjištěním jejich dalších linií–komponent, které se u těchto odrůd–populací liší relativním zastoupením a zejména odlišnou skladbou hordeinových genů.

K rozlišení jednoliniových odrůd s identickými hordeinovými elektroforetickými spektry je možné použít dalších bílkovinných genetických markerů, např. glutelinů (Pomorcev et al., 1987), isoenzymů (Jones, 1987) či RFLP lokusů (Ananiev, 1987). Některé hordeinově identické odrůdy ječmene jarního se podařilo rozlišit pomocí elektroforézy isoesteráz (Sýkorová, Hadačová, 1992).

Z odrůd ozimého ječmene jsou hordeinově shodné odrůdy Borvina, Kamil a Lunet. Identické hordeinové spektrum vykazuje i B linie odrůdy Nebelia (HRD A14–HRD B3–HRD F2). Odrůdy–populace Kromoz, Nebelia, Okal a Sibra mají po jedné hordeinově totožné linii A (HRD A3–HRD BN1–HRD F1). Dají se však identifikovat pomocí dalších komponent těchto odrůd, tj. linií B, resp. C.

Odrůda dvouřadého ječmene ozimého Marinka má identickou skladbu hordeinů s linií C odrůdy Okal, resp. s A linií odrůdy Sorna. Představuje však hordeinově jednoliniovou odrůdu, zatímco ostatní odrůdy se odlišují přítomností dalších dvou, případně pěti linií. Odrůdu Sorna lze identifikovat podle přítomnosti tří hlavních hordeinových linií A, B, C a dalších tří vedlejších linií D, E a F.

Významné je potvrzení dřívějších poznatků (Černý et al., 1993b), že odrůdy ječmene ozimého se dají spolehlivě rozlišit elektroforézou hordeinů od odrůd ječmene jarního. Pro ozimé odrůdy je charakteristická vysoká četnost genů *HRD A14* a *HRD A3*, které nebyly zjištěny u čs. odrůd ječmene jarního.

Literatura

- ČERNÝ, J. – ŠAŠEK, A.: Hordeinové markery ječmene setého. *Genet. a Šlecht.*, 24, 1988: I–X.
- ČERNÝ, J. – ŠAŠEK, A. – HOUBA, N. – VEISHAPT, F.: Prolamine starch gel electrophoresis determination of varietal trueness and varietal purity in common wheat and common barley. *Genet. a Šlecht.*, 29, 1993a: 89–98.
- ČERNÝ, J. – ŠAŠEK, A. – ŠPUNAR, J.: Hordein protein electrophoresis identification of two-rowed spring barleys and multi-rowed winter barleys. *Genet. a Šlecht.*, 29, 1993b: 11–25.
- GUNZEL, G. – FISCHBECK, G.: Die Sorten diagnose am Gerstenkorn. *Brauwissenschaft*, 32, 1979: 226–232.
- HAUZER, K. – ŠAŠEK, A. – KUBÁNEK, J. – ČERNÝ, J.: Hordein characteristics of spring barley varieties grown in CSR. In: AUIPI-ISTA, Leningrad, III. Int. Symp. Biochemical identification of varieties. 1.–8. 9. 1987: 114.

JONES, B. L.: Identifying United States Malting barley varieties by electrophoresis of hordeins and esterase enzymes. In: AUIPI – ISTA, III. Int. Symp. Biochemical identification of varieties. Leningrad 1.–8. 9. 1987: 159.

POMORCEV, A. A. – LADOGINA, M. P. – NECVETAJEV, V. P.: Storage protein electrophoresis in identification of barley varieties. In: AUIPI-ISTA, III. Int. Symp. Biochemical identification of varieties. Leningrad 1.–8. 9. 1987: 139.

POMORCEV, A. A. – NECVETAJEV, V. P. – SOZINOV, A. A.: Polimorfizm kulturnogo jačmenja (*Hordeum vulgare* L.) po gordeinam. Genetika, 21, 1985: 629–639.

SOZINOV, A. A.: Polimorfizm belkov, jeho značenie v genetike i selekcii. Moskva, Nauka 1985.

SOZINOV, A. A. – METAKOVSKIJ, E. V. – POMORCEV, A. A.: Problemy ispolzovaniya blokov komponentov prolamina v kačestvė genetičeskich markerov u pšenicy i jačmeňa. Selchozbiologija, 1989: 3–11.

SOZINOV, A. A. – POPERELJA, F. A.: Metodika vertinalnogo elektroforeza v krachmalnom gele, genetičeskij princip klassifikaciji gliadinov. Oděsa, VSGI 1978.

SÝKOROVÁ, S. – HADAČOVÁ, V.: Characterization of some czechoslovak cultivars of spring barley (*Hordeum vulgare* L.) by means of esterase isoenzymes. Scientia Agric. bohemoslov., 24, 1992: 198–206.

ŠAŠEK, A. – BRADOVÁ, J. – ČERNÝ, J. – NECVETAJEV, V. P.: A catalogue of electrophoretic hordein spectra in the assortment of winter barley varieties and new varieties. Scientia Agric. bohemoslov., 22, 1990b: 11–21.

ŠAŠEK, A. – ČERNÝ, J.: Improving the identification of allelic gliadin blocks. Scientia Agric. bohemoslov., 15, 1983: 103–109.

ŠAŠEK, A. – ČERNÝ, J. – NECVETAJEV, V. P. – BRADOVÁ, J.: A catalogue of electrophoretic hordein spectra of czechoslovak certified spring barley varieties. Scientia Agric. Bohemoslov., 22, 1990a: 1–10.

Došlo 31. 8. 1994

Kontaktní adresa:

Ing. Antonín Šašek, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby,
161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: 02/360 851, Fax: 02/365 884

Ústav zemědělských a potravinářských informací Praha

vydává

ZAHRADNICKÝ NAUČNÝ SLOVNÍK

Po více než 70 letech vychází v České republice zahradnický slovník v moderním pojetí, zahrnující nejen ovocnářství, zelinářství, květinářství, sadovnictví, školkařství, vinařství, léčivé rostliny, kultivované vyšší houby a zpracování ovoce a zeleniny, ale i pro zahradnictví důležité úseky botaniky, fyziologie, genetiky a šlechtění, nové zahradnické biotechnologie a ochranu zahradních plodin.

Předpokládaný rozsah slovníku je 4 až 5 dílů formátu A4 (každý rok počínaje rokem 1994 vyjde jeden díl). První díl bude mít 512 stran textu včetně pérovek a černobílých fotografií a 32 barevných tabulí.

Předpokládaná cena prvního dílu je 295 Kč (bez poštovného).

Závazné objednávky zasílejte na adresu:

Ústav zemědělských a potravinářských informací
Encyklopedická kancelář
Slezská 7
120 56 Praha 2

**STRATY NIEKTORÝCH VITAMÍNOV SKUPINY B
PRI PRÍPRAVE MÄSOVÝCH POKRMOV**

**Loss of some Vitamins of Group B
in the Course of Preparation of Meat Dishes**

Bernadetta HOZOVÁ, František STRMISKA, Zuzana BARTEKOVÁ

*Faculty of Chemical Technology of the Slovak Technical University,
Bratislava, Slovak Republic*

Abstract: Changes in thiamine, riboflavin, pantothenic acid and vitamin B₆ were experimentally determined in the course of cooking, stewing, roasting and frying in 30 samples of beef and pork and entrails (liver). The average losses ranged in dependence on the way of used heat treatment and on the kind of material from 16.1 to 82.6% in thiamine, from 0 to 56.3% in riboflavin (shrinkage loss), from 8.6 to 91.9% pantothenic acid and from 32.2 to 82.7% in vitamin B₆.

thiamine; riboflavin; vitamin B₆; pantothenic acid; technological processes

Abstrakt: V práci sa uvádzajú výsledky experimentálneho štúdia zmien tiamínu, riboflavínu, kyseliny pantoténovej a vitamínu B₆ pri varení, dusení, pečení a vyprážaní 30 vzoriek hovädzieho a bravčového mäsa a vnútorností (pečeň). Zistilo sa, že priemerné straty tiamínu sa pohybovali v závislosti od použitého tepelného procesu a od druhu materiálu v intervale od 16,1 do 82,6 %, riboflavínu (straty vylúhovaním) od 0 do 56,3 %, kyseliny pantoténovej od 8,6 do 91,9 % a vitamínu B₆ od 32,2 do 82,7 %.

tiamín; riboflavín; vitamín B₆; kyselina pantoténová; technologické procesy

Pre uplynulé obdobie vyše 40 rokov je charakteristické, že v ňom vznikli a dynamicky sa rozvíjali rôzne formy spoločného stravovania – reštauračné, závodné a predovšetkým školské stravovanie. Za ten čas sa v doterajšom vývoji odskúšalo niekoľko modelov organizácie a riadenia spoločného stravovania, takže dnes predstavuje spoločné stravovanie významný úsek spoločensko-ekonomickej činnosti. Súčasný stále prevažujúci malovýrobný charakter výroby pokrmov s prevahou ručnej práce, s nedostatočnou mechanizáciou a špecializáciou, s nízkou technologickou a výživovo-ekonomickou účin-

nosťou tvorí ešte veľké rezervy pre cieľavedomý a kvalifikovaný prístup pre zdokonalenie technológie výroby pokrmov verejného stravovania. Údaje o spotrebe potravín dokumentujú nie celkom opodstatnený odklon od pôvodne jednoduchšej stravy a rýchly prechod k spotrebe požívatín vyznačujúcich sa bohatým obsahom energie a pritom iba s pomerne nízkym zastúpením vitamínov a minerálnych látok. Tak pretrvávajú určité nedostatky príjmu živočíšnych bielkovín, vitamínov A, B₂ a najmä C, z minerálií vápnika a železa. Z toho vyplýva, že nadmernosť objemovej zložky výživy uchováva, alebo dokonca ešte zhoršuje nesprávnu štruktúru hlavných živín a príjem látok zo skupiny výživových faktorov. Preto je opodstatnená snaha o exaktné štúdium výživových faktorov surovín, ich racionálne využitie pre výživu človeka a predchádzanie zbytočnému plytvaniu v technologickom procese. Dôležitou skupinou nutrične dôležitých látok v metabolizme ľudského organizmu sú aj vitamíny skupiny B, ktorých bohatým zdrojom je hovädzie a bravčové mäso a vnútornosti.

Literárne údaje z oblasti vplyvu rôznych spôsobov kulinárnej úpravy (varenia, dusenia, pečenia, vyprážania, grilovania a i.), ale aj veľkokapacitnej termosterilizácie (stacionárnej a rotačnej) na zmeny najmä termolabilných vitamínov (tiamín, B₆) sú rozsiahle (Guilland et al., 1991; Kimura et al., 1990; Gerster, 1989). Najväčšie straty sú spôsobené sterilizáciou (55 až 77 %), pečením a vyprážením (50–89 %), varenie má za následok straty okolo 25–50 %, kým mikrovlnový ohrev je šetrnejší v porovnaní s konvenčnými procedúrami (Gerster, 1989; Barbeau, Schnepf, 1989).

V rámci štúdia obsahu živín a ich zmien pri príprave mäsových pokrmov v školskom stravovaní sme v priebehu dvoch rokov analyzovali rôzne tepelne upravené (varením, dusením, pečením a vyprážením) bravčové a hovädzie mäso a vnútornosti spôsobmi najviac používanými pri kulinárnej úprave jedál. Sledovali sme zmeny niektorých vitamínov skupiny B (tiamín, riboflavín, B₆, kyselina pantoténová). Experimentálne výsledky budú podkladom pre spracovanie do banky dát v tabuľkách výživových hodnôt požívatín.

MATERIÁL A METÓDY

Pre experimentálne štúdium zmien koncentrácie zvolených vitamínov skupiny B sme použili hovädzie a bravčové mäso a vnútornosti odobraté z Mäsového priemyslu, š. p., Bratislava-Rača (marec 1991 až október 1992).

Vzorky boli rozdelené do troch podskupín (a, b, c) reprezentujúcich rôzne svalové partie:

Hovädzie mäso

- hovädzie chudé – zmes svaloviny stehna a roštenky
- hovädzie tučné – zmes mäsa hrude a boku
- hovädzia nožina

Bravčové mäso

- bravčové stehno
- bravčové plecko
- bravčový bôčik

Vnútorosti

- hovädzia pečeň
- bravčová pečeň

Uvedené druhy mäsa a vnútorostí boli podrobené rôznym tepelným úpravám zvoleným podľa kulinárnych zvyklostí. Hmotnostné proporcie mäsa, vody, príp. oleja alebo bravčovej masti (bravčová pečeň) zodpovedajú parametrom noriem pre školské stravovanie, soľ sa pri experimentoch nepoužila. Pri varení a dusení sa použilo mäso nakrájané na kocky, pri pečení a vyprážaní bolo mäso nakrájané na plátky. Všetky tepelné úpravy sa vykonali v smaltovaných nádobách bez kazov.

Príprava vzoriek

Z mäsa bol odstránený tuk, šľachy a blany (asi 7 %). Aplikovaný čas a teplota pri úprave vzoriek zodpovedali tradičnej kulinárnej príprave pokrmov v domácnostiach alebo vo verejnom stravovaní (varenie – 2 h, dusenie – 1,15 až 2 h, pečenie – 1,15 až 2 h, vyprážanie – 3 až 15 min). Hmotnosť východiskovej suroviny bola nasledovná: hovädzie mäso – 1 500 g, bravčové mäso – 1 500 g, vnútorosti – 1 200 g. Pri úprave vzoriek varením bol pridaný dvojnásobok (bravčové mäso), trojnásobok (pečeň) a päťnásobok (hovädzie mäso) pitnej vody; pri dusení to bol dvojnásobok, pri pečení trojnásobok pitnej vody vzhľadom na východiskovú hmotnosť mäsa; pri vyprážaní bol použitý olej tvoriaci 1/5 a bravčová masť 1/10 hmotnostného podielu mäsa a vnútorostí.

Po skončení technologických operácií a po vychladnutí vzoriek sme vykonali výstupnú materiálovú bilanciu vzhľadom na vstupné hmotnostné podiely. Vzorky boli zhomogenizované v mixéri (dusené a pečené spolu so šťavou), následne boli zabalené do PE vreciek a boli uskladnené v mraziarenských podmienkach ($-15\text{ }^{\circ}\text{C}$) až do vykonania analýz. Spolu bolo pripravených 30 vzoriek (+ 7 vývarov), z ktorých každá predstavovala tri stanovenia s dvomi paralelnými analýzami ($n = 6$). Výsledky stanovení (v mg) boli prepočítané na 1 kg jedlého podielu a na 1 kg sušiny vzhľadom na východiskový materiál (surové mäso). Z priestorových dôvodov uvádzame iba percentuálne vyjadrenie strát jednotlivých B vitamínov pri použitých úpravách tepelného spracovania modelových vzoriek v prepočte na 1 kg sušiny.

Použité metódy

Stanovenie tiamínu (podľa ČSN 56 0052). Tiamín sa v silne alkalickom prostredí oxiduje hexakynoželezitanom draselným na tiochróm, ktorý sa kvantitatívne prevedie do izobutanolu a zmeria sa intenzita fluorescencie.

Stanovenie riboflavínu (podľa ČSN 56 0054). Riboflavín sa v hydrolyzovanom extrakte vzorky po alkalizácii prevedie ožiarením na lumiflavín. Po vyčistení extraktu sa vzniknutý lumiflavín preextrahuje do chloroformu a z intenzity fluorescencie tohto roztoku sa vypočíta koncentrácia riboflavínu.

Stanovenie vitamínu B₆ (podľa ČSN 56 0056). Vitamín B₆ sa stanoví mikrobiologickou metódou so *Saccharomyces uvarum* ATCC 9080 na princípe merania zákalu buniek uvedeného kmeňa v závislosti od koncentrácie vitamínu B₆ vo vzorke.

Stanovenie kyseliny pantoténovej (podľa ČSN 56 0060). Kyselina pantoténová sa stanoví mikrobiologickou metódou so *S. uvarum* ATCC 9080 na princípe merania zákalu buniek uvedeného kmeňa v závislosti od koncentrácie kyseliny pantoténovej vo vzorke.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tab. I až III sa nachádzajú výsledky percentuálneho vyhodnotenia strát sledovaných vitamínov skupiny B (tiamín, riboflavín, B₆, kyselina pantoténová) v priebehu tepelnej úpravy hovädzieho mäsa (chudé, tučné, nožina), bravčového mäsa (stehno, pliecko, bôčik), ako aj hovädzej a bravčovej pečene.

Hovädzie mäso

Tiamín

Surové hovädzie chudé mäso obsahovalo 2,94 mg tiamínu na 1 kg sušiny. Ako vidieť z tab. I, pri úprave hovädzieho mäsa boli straty tiamínu počas varenia, dusenia a pečenia pomerne vyrovnané – okolo 50 % (hodnoty strát pri varenom mäse každého druhu sú vzťahované len na svalovinu; keďže do výluhu prechádza približne od 5 do 15 % všetkých B vitamínov, sú skutočné straty pri varení reálne nižšie než straty uvedené v tabuľkách – jednotlivé spôsoby úpravy sa teda môžu brať ako rovnocenné). Vyprážením hovädzieho chudého mäsa sa straty tiamínu pohybovali okolo 40 %. Úpravou hovädzieho tučného mäsa a hovädzej nožiny boli straty dusením celkovo nižšie v porovnaní s tepelnou úpravou hovädzieho chudého mäsa (koncentrácia tiamínu v hovädzom surovom tučnom mäse 0,84 mg na kg sušiny, v hovädzej nožine 1,76 mg na kg sušiny).

I. Straty tiamínu, riboflavínu a vitamínu B₆ počas tepelnej úpravy hovädzieho mäsa – The losses of thiamine, riboflavin and vitamin B₆ during heat treatment of beef

Vzorka a tepelná úprava ¹	Straty B vitamínov ⁹ [%]		
	tiamín ¹⁰	riboflavín ¹¹	B ₆
Hovädzie chudé ²			
varené ³	58,3	56,3	76,9
dusené ⁴	51,3	46,1	46,3
pečené ⁵	52,9	43,7	67,0
vyprážené ⁶	39,4	46,9	82,3
Hovädzie tučné ⁷			
varené ³	32,1	17,2	70,9
dusené ⁴	18,5	0,0	60,2
Hovädzia nožina ⁸			
varená ³	53,1	a	82,7
dusená ⁴	40,0	b	32,2

prírastok – increment: a = 21,8 %; b = 54,2 %

¹sample and way of heat treatment; ²lean beef; ³cooked; ⁴stewed; ⁵roasted; ⁶fried; ⁷fatty beef; ⁸skins and shanks; ⁹losses of B vitamins; ¹⁰thiamine; ¹¹riboflavin

Riboflavín

Straty riboflavínu v hovädzom chudom mäse, priemerná koncentrácia 9,21 mg na kg sušiny boli v priemere nižšie v porovnaní so stratami tiamínu a B₆, pravdepodobne v dôsledku vyššej rezistencie proti tepelného zásahu. Vysoké straty pri varení (56,3 %) nastali v dôsledku vylúhovania. Naproti tomu sme zaznamenali nižšie straty vo vzorkách hovädzieho tučného mäsa a hovädzej nožiny, kde boli namerané „prírastky“ 21,8 až 54,2 %, preto ich v tabuľkách neuvádzame (surové hovädzie tučné mäso obsahovalo priemerne 2,67 mg a surová hovädzia nožina 4,06 mg na kg sušiny).

Vitamín B₆

sa prejavil ako typický termosenzitívny vitamín – najvyššie straty boli pri varení, a to od 70,9 do 82,7 %, a pri vyprážaní (82,3 %), najnižšie pri dusení – 32,2 až 46,3 % z východiskovej hodnoty (surové hovädzie chudé mäso 11,22 mg, hovädzie tučné mäso 5,53 mg a hovädzia nožina 7,24 mg na kg sušiny).

Bravčové mäso

Tiamín

Koncentrácia tiamínu v surovom bravčovom stehne bola v priemere 34,1 mg na kg sušiny. Varením bravčového stehna a bôčika sa deštruovalo 60 až 80 % tiamínu, straty dusením variovali okolo 50 %, pečením vo všetkých vzorkách v intervale od 42,8 do 73,3 % (tab. II), surové bravčové pliecko 13,2 mg a bravčový surový bôčik 5,3 mg na kg sušiny.

Riboflavín

Surové bravčové stehno obsahovalo 6,12, pliecko 6,13 a bôčik 2,63 mg riboflavínu na 1 kg sušiny. Ako vidieť z tab. II, tepelnou úpravou bravčového mäsa sa uchovalo viac riboflavínu v porovnaní s jeho obsahom v hovädzom mäse. Najnižšie straty sa dosiahli pri dusení (6,2 až 12,9 %), vyššie straty boli pozorované pri pečení (30 až 40 %) a najvyššie sa vyskytli pri vyprážaní (54,3 %) bravčového stehna.

Kyselina pantoténová

Koncentrácia kyseliny pantoténovej vo východiskových surovinách bola nasledovná: bravčové stehno 306,1 mg, pliecko 105,1 mg a bôčik 86,3 mg na 1 kg sušiny. Straty kyseliny pantoténovej, ako dokumentuje tab. II, sa pohy-

II. Straty tiamínu, riboflavínu a kyseliny pantoténovej počas tepelnej úpravy bravčového mäsa
 – The losses of thiamine, riboflavin and pantothenic acid during heat treatment of pork

Vzorka a tepelná úprava ¹	Straty B vitamínov ⁹ [%]		
	tiamín ¹⁰	riboflavín ¹¹	kyselina pantoténová ¹²
Bravčové stehno²			
varené ³	82,6	35,9	59,3
dusené ⁴	51,4	6,2	8,6
pečené ⁵	61,9	31,7	14,1
vyprážené ⁶	84,1	54,3	58,2
Bravčové pliecko⁷			
dusené ⁴	51,8	12,9	
pečené ⁵	73,3	30,5	
Bravčový bôčik⁸			
varený ³	63,4	15,6	39,7
pečený ⁵	42,8	40,7	40,4

¹sample and way of heat treatment; ²pork ham; ³cooked; ⁴stewed; ⁵roasted; ⁶fried; ⁷pork shoulder; ⁸pork belly; ⁹losses of B vitamins; ¹⁰thiamine; ¹¹riboflavin; ¹²pantothenic acid

bovali pri varení v rozmedzí od 39,7 do 59,3 %; najnižšie boli pri dusení (8,6 %) a najvyššie pri vyprážení bravčového stehna (58,2 %).

Hovädzia a bravčová pečeň

Tiamín, riboflavín, kyselina pantoténová, B₆

Z výsledkov uvedených v tab. III vyplýva, že vo vzorke hovädzej pečene bola uchovateľnosť tiamínu (surová 14,8 mg na kg sušiny) a riboflavínu (surová 65,6 mg na kg sušiny) vyššia pri všetkých tepelných operáciách ako vo vzorkách bravčovej pečene (surová: tiamín 11,6, riboflavín 81,5 mg na kg sušiny). Straty kyseliny pantoténovej v hovädzej pečeni (surová vzorka obsahovala 624,5 mg na kg sušiny) boli naopak extrémne vysoké pri aplikácii všetkých tepelných operácií (75 až 90 %); podobne pri stanovení vitamínu B₆ boli úbytky v bravčovej pečeni od 43,9 (dusením) po takmer 70 % (vare-

III. Straty tiamínu, riboflavínu, vitamínu B₆ a kyseliny pantoténovej počas tepelnej úpravy hovädzej a bravčovej pečene – The losses of thiamine, riboflavin, vitamin B₆ and pantothenic acid during heat treatment of beef and pork roast

Vzorka a tepelná úprava ¹	Straty B vitamínov ⁷ [%]			
	tiamín ⁸	riboflavín ⁹	kyselina pantoténová ¹⁰	B ₆
Hovädzia pečeň ²				
varená ³	16,1	26,0	91,9	
dusená ⁴	25,2	0,0	75,3	
vyprážaná ⁵	22,9	16,1	87,0	
Bravčová pečeň ⁶				
varená ³	61,6	44,5		68,8
dusená ⁴	49,9	34,5		43,9
vyprážaná ⁵	34,1	26,6		54,7

¹sample and way of heat treatment; ²beef roast; ³cooked; ⁴stewed; ⁵fried; ⁶pork roast; ⁷losses of B vitamins; ⁸thiamine; ⁹riboflavin; ¹⁰pantothenic acid

ním) (surová bravčová pečeň obsahovala 10,9 mg vitamínu B₆ v prepočte na kg sušiny).

Z uvedeného je zjavné, že straty všetkých sledovaných nutričných zložiek počas aplikovaných tepelných operácií nie sú vonkoncom zanedbateľné, preto je nutné túto skutočnosť v kulinárnej praxi zohľadňovať a nepredlžovať zbytočne čas prípravy pokrmov.

Literatúra

- BARBEAU, W. E. – SCHNEPF, M.: Sensory attributes and thiamine content of roasting chickens cooked in a microwave, conventional microwave and conventional electric oven. *Food Quality*, 12, 1989: 203–213.
- GERSTER, H.: Vitamin losses with microwave cooking. *Food Sci. Nutr.*, 42 F, 1989: 173–181.
- GUILAND, J. C. – RIVERA, M. A. – KOKKIDS, M. J.: Effect of different cooking methods on vitamin contents of food. (Reviews). *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, 26, 1991: 19–22.

KIMURA, M. – ITOKAWA, Y. – FUJIWARA, N.: Cooking losses of thiamine in food and its nutritional significance. *Lecture J. Nutrit. Sci. and Vitaminol.* 36, 1990: 17–24.

ČSN 56 0052: Stanovení thiaminu. Praha, 1969.

ČSN 56 0054: Stanovení riboflavinu. Praha, 1971.

ČSN 56 0056: Stanovení vitamínu B₆ v poživatinách. Praha, 1981.

ČSN 56 0060: Stanovení kyseliny panthothenové v poživatinách. Praha, 1983.

Došlo 4. 8. 1994

Kontaktní adresa:

RNDr. Bernadette Hozová, CSc., Slovenská technická univerzita, Chemicko-technologická fakulta, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika, tel.: 07/326 021, fax: 07/326 021

INFORMACE

HLEDÁ SE SPOLUPRÁCE S PRŮMYSEM

Výzkumní pracovníci zapojení do nového projektu v rámci Evropské unie „Modelování tepelných vlastností a chování potravinářských produktů během výroby, skladování a distribuce“ hledají podporu a partnery v průmyslu, kteří by měli zájem o využití výsledků projektu již v průběhu jeho řešení a po jeho dokončení.

Výzkum, který byl zahájen v květnu tohoto roku, je součástí programu spolupráce EU se zeměmi střední a východní Evropy v oblasti vědy a techniky (tzv. program PECO). Bude trvat tři roky a jeho celkový rozpočet činí 845 000 ECU.

Tepelná degradace produktů v potravinovém řetězci způsobuje vyšší materiální ztráty, resp. zvýšené ohrožení lidského zdraví. Ačkoliv odpovědní pracovníci potravinářského průmyslu si jsou těchto problémů vědomi, nemají vždy k dispozici prakticky využitelné prostředky a nástroje, které by jim umožnily takové situace včas předvídat. Nový vývoj na poli hardwaru a softwaru však brzy umožní – s využitím stávajících poznatků o tepelných vlastnostech a přestupu tepla – simulaci tepelných

pochodů a tepelného zpracování potravinářských produktů na osobních počítačích. Výpočty založené na těchto programech pak umožní výrobcům a zpracovatelům předvídat tepelné chování jejich produktů v potravinovém řetězci a zjišťovat, resp. předcházet vzniku situací, které by vedly k nepřijatelnému zhoršení kvality.

Vývoj takovýchto nástrojů je hlavní součástí tohoto mezinárodního projektu. Např. COSTHERM, program vyvinutý v 80. letech a umožňující předpovídat termofyzikální vlastnosti potravin, bude aktualizován. Současně je v plánu vývoj dvou nových softwarových produktů, HEATRANS a SOLTHER. Pomocí programu HEATRANS se budou zjišťovat efektivní koeficienty přestupu tepla pro všechny situace a operace s potravinářskými produkty v celém řetězci výroby, zpracování a další manipulace. Program SOLTHER bude předpovídat tepelné chování těchto produktů.

Na programu spolupracují tato pracoviště:

- CSL potravinářská laboratoř Torry, Aberdeen, Velká Británie;
- Univerzita Aberdeen, katedra inženýrství, Velká Británie;
- Univerzita Bristol, katedra veterinárního lékařství, Velká Británie;
- Ústav pro veterinární lékařství a živočišnou výrobu, Spelderholt, Beekbergen, Holandsko;
- Výzkumný ústav potravinářský, Praha, Česká republika;
- Technická univerzita Sofia, katedra technologie a techniky chlazení, Bulharsko.

Dílčí a konečné výsledky výzkumného programu budou prezentovány na pracovních setkáních a seminářích v průběhu tříletého období a na jeho závěr. Programy pak budou zpřístupněny a bude umožněno jejich využití v průmyslu, přičemž sami řešitelé budou účinně nápomocni při optimálním zavádění výsledků do praxe. Již nyní je vítána jakákoliv podpora a pomoc ze strany potravinářského průmyslu a výzkumu – ať už formou finanční podpory, nebo odborné spolupráce.

Pro bližší informace kontaktujte prosím dr. Pavla Nesvada, koordinátora celého projektu (CSL Food Science Laboratory Torry, Aberdeen UK), tel. 0044 2248 77071, fax 0044 2248 74246.

Zájemci o spolupráci z České republiky se mohou informovat přímo na adrese:

Ing. Milan Houška, CSc.,
Výzkumný ústav potravinářský Praha,
Radiová 7, 102 31 Praha 10,
tel. 02 702 331, fax 02 701 983

Ing. Jiřina Šafrová

INFORMATION

EURO FOOD TOX IV "Bioactive Substances in Food of Plant Origin" 22-24 September, 1994

This meeting, held at Mierki, near Olsztyn, was organized by the Centre for Agrotechnology and Veterinary Sciences, Polish Academy of Sciences, Olsztyn and held under the auspices of this body, the Olsztyn University of Agriculture and Technology, FECS Working Party on Food Chemistry, and the European Society of Toxicology.

One hundred and fifty delegates from twenty five countries attended this meeting, which involved eight plenary lectures, twenty eight oral presentations and fifty nine posters. The success of the meeting was set by the lakeside venue, and by the friendly and hospitable attitude of the Polish hosts.

Considerable interest has been shown in naturally occurring bioactive substances for many years. Emphasis has recently been laid on compounds exhibiting detrimental properties (natural or inherent toxicants), but plant secondary metabolites exhibiting positive health attributes (phytoprotectants) are now attracting increased attention, on the part of researchers, consumers and industry. The problems and chances (both scientific and financial) of the developing areas of nutraceuticals and functional foods were graphically illustrated by Prof. Furst (Hohenheim).

As with the three previous Eurofoodtox meetings (held in Zurich), this conference brought together chemists and toxicologists with a common interest in food. In general, it may be concluded that methods for chemical analyses (as described in several presentations by the group of Prof. Sørensen, Copenhagen) are more advanced than for food toxicology, thus making it difficult – if not impossible – to reach any reliable conclusion about the biological significance of such compounds in the diet. Verhagen and Feron (Zeist) described ongoing studies in which the effects of natural constituents were addressed in cell lines and in human subjects, whilst in a complementary plenary, Williamson (Norwich) described recent work on the screening of plant food extracts against phase I, phase II and antioxidant enzymes. Amongst the plant secondary metabolites addressed during the meeting, glucosinolates and their breakdown products received the most attention (which was particularly appropriate given the extensive work in this area of Professors Rutkowski and Kozłowska). The role of phytate was addressed by Prof. Sandberg (Gothenberg), the complex structures and activities of plant phenolics by Prof.

Macheix (Montpellier) and plant protease inhibitors by Prof. Birk (Rehovot). Prof. Schlatter (Zurich) summarised toxicological aspects of ochratoxin A and fumonisins, which could be regarded as a model for the understanding of the mode of action of tumor promoters.

In recent years, pan-European research has been increasing dramatically, stimulated by funding and grants offered by the European Union and other organisations. The large number of young scientists attending this meeting, the enthusiastic discussions taking place at the coffee breaks and in the evenings, and the exchange of fax numbers and E-mail addresses suggest that such contacts and collaborations will continue to develop.

Perhaps the greatest challenge to those working in this complex and demanding area will be to effectively harness the expertise and knowledge available across such areas as natural product and analytical chemistry, epidemiology, *in vivo* and *in vitro* toxicology, structure/activity modelling, thereby to most efficiently achieve reliable risk/benefit analyses for both the population at large and for individual sub-groups thereof.

Having identified the need to optimise levels of individual (or classes of) compounds, there will be a need for close contacts with plant breeders and molecular biologists, and with food technologists. Such optimisation must naturally take account of the demands of the consumer, and the role of these compounds in developing plant. Indeed, the overlapping identities of natural toxicants, protective factors and natural pesticides were emphasised by a number of participants.

These issues will undoubtedly feature prominently at the next Euro-Food-Tox meeting, to be held in Norwich in the autumn of 1998.

The conference Proceedings have been published in two volumes and on four diskettes. They are available at 75 sFr a set at the following address:

attn. Dr Halina Leman
Division of Food Science
Centre for Agrotechnology & Veterinary Science PAS
10 Tuwima Street
10-718 Olsztyn
Poland

Prof. ing. Jiří Davídek, DrSc.

ŽIVOTNÍ JUBILEA

**K významnému životnímu jubileu
prof. ing. dr. Vladimíra Kyzlinka, DrSc., Dr.h.c.**

Prof. Vladimír Kyzlink, významný představitel oboru konzervace potravin, se dožívá osmdesáti let. Narodil se 29. ledna 1915 v Brně. Tam rovněž studoval na Vysoké škole zemědělského inženýrství a na Přírodovědecké fakultě univerzity v Brně. Po dvouletém působení jako vysokoškolský asistent v oboru agrochemie nastoupil jako výzkumný chemik do závodu Biochema v Modřicích u Brna. V modřickém závodě, který měl poměrně široký výrobní program v oblasti potravinářské i v přidružených chemických výrobcích, získal prof. Kyzlink dobrou praxi a široký rozhled. Do doby zřízení oborového výzkumného ústavu byla modřická laboratoř prof. Kyzlinka významným chemicko-technologickým centrem našeho konzervářství. Po své habilitaci v roce 1946 se prof. Kyzlink stal předsedou komise pro organizaci zakládaného zahradnického a pak i technologického odboru Vysoké školy zemědělského inženýrství v Brně. Na brněnské vysoké škole později vybudoval ústav ovocnářské a zelinářské technologie, na který v roce 1948 přešel z Modřic s plným úvazkem jako nově jmenovaný profesor. Po zřízení fakulty potravinářské technologie na Vysoké škole chemicko-technologické v Praze byl prof. Kyzlink z Brna přeložen do Prahy, kde vybudoval ústav podobného zaměření, který se v roce 1957 stal samostatnou katedrou konzervářské technologie se širší náplní pokrývající také technologii masa a později problematiku balení potravin. Katedra prof. Kyzlinka se stala jednou ze specializací fakulty potravinářské technologie a od té doby až dodnes zajišťuje výuku v oboru konzervace potravin a technologie masa.

Kromě široké pedagogické aktivity byl prof. Kyzlink velmi činný také ve vědecko-výzkumné oblasti. Jeho vědecké práce pokrývají široké spektrum problémů zpracování a konzervace potravin. Významnými kapitolami jeho práce byly např. studium problematiky sušení a rehydratace, chemie pektinů, pektolytické procesy, využití pektolytických enzymů, stabilita antokyanových barviv a velmi široká problematika oxidoredukčních procesů během zpracování potravin, zejména s ohledem na změny kyseliny askorbové. Patrně nejvýznamnější oblastí práce prof. Kyzlinka bylo studium termoinaktivačních křivek enzymů a mikroorganismů a jejich matematické zpracování.

Výsledky publikoval v řadě původních vědeckých prací. Kromě toho je prof. Kyzlink autorem několika rozsáhlých monografií. Asi největšího ohlasu dosáhla

práce *Základy konzervace potravin*, která formuluje původní způsob konzervačních metod. Kniha byla vydána v několika upravovaných vydáních a dodnes slouží jako základní zdroj informací nejen studentům, ale také širokému okruhu odborníků v konzervářské praxi a příbuzných oborech. O kvalitě uvedeného díla svědčí také jeho vydání v anglické verzi (*Principles of food preservation*) vydavatelstvím Elsevier v roce 1990.

Kromě své vysokoškolské činnosti působil prof. Kyzlink i v řadě národních a mezinárodních organizací, byl řádným členem České akademie zemědělské a předsedou jejího VI. odboru (potravinářská technologie a výživa), působil v IIF (Institut International du Froid) a ve vydavatelském kolektivu mezinárodního časopisu *Confructa*.

Rozsáhlá činnost prof. Kyzlinka byla odměněna řadou významných uznání, tuzemských i zahraničních. Jsou to např. stříbrná medaile *Commission International des Industries Alimentaires et Agricoles* v Paříži, stříbrná medaile ČAZ, Plaketa *Emila Votočka* a další. V roce 1992 udělila prof. Kyzlinkovi čestný doktorát Vysoká škola zemědělská v Brně. V roce 1994 uděluje Fakulta potravinářské a biochemické technologie VŠCHT v Praze prof. Kyzlinkovi nově zavedenou medaili K. N. Ballinga.

Nejvyššího ocenění si však prof. Kyzlink zaslouží za svoji celoživotní pedagogickou činnost. Vytvořil koncepci oboru, neustále zdokonaloval studijní texty, již zmíněná velmi kvalitní monografie byla vždy v první řadě vysokoškolskou učebnicí. Během svého působení profesor Kyzlink vychoval několik generací úspěšných odborníků a nesmazatelně ovlivnil vývoj oboru. I dnes, léta po ukončení jeho aktivního působení v ústavu, všichni jeho následovníci v podstatě pokračují jím vytyčeným směrem.

Jménem všech jeho pokračovatelů mu přeji zejména dobré zdraví a léta spokojeného života. Doufám, že přiměřeně svým silám bude i nadále v kontaktu se svým ústavem formou konzultací a besed se studenty.

Ing. Michal Voldřich, CSc.

Instructions for authors

Manuscripts in duplicate should be addressed to: RNDr. Marcela Braunová, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic.

Authors have full responsibility for the contents of their papers, including any correction made by the editors. The board of editors of this journal will decide on paper publication, with respect to expert opinions, scientific importance, contribution and quality of the paper.

Original papers should not consist of more than 12 typewritten pages (2-linespacing), short communications may not exceed 3 typewritten pages. Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes.

Abstract is an information selection of the contents and conclusions of the paper, it is not a mere description of the paper. It must present all substantial information contained in the paper. It shall not exceed 170 words. It shall be written in full sentences, not in form of keynotes. It is published in the language the paper is written in, it should comprise base numerical data including statistical data. Each manuscript must contain a short or a longer summary.

Introduction has to present the main reasons why the study was conducted, and the circumstances of the studied problems should be described in a very brief form.

Material and Methods: Only original method shall be described, in other cases it is sufficient enough to cite the author of the used method and to mention modifications of this method. This section shall also contain a description of experimental material.

In the section **Results** figures and graphs should be used rather than tables for presentation of quantitative values. The same data should not be presented in both tables and figures. A statistical analysis of recorded values should be summarized in tables. This section should not contain either theoretical conclusions or deductions, but only factual data should be presented here.

Discussion contains an evaluation of the study, potential shortcomings are discussed, and the results of the study are confronted with previously published results (only those authors whose studies are in closer relation with the published paper should be cited).

The **citations** shall be presented pursuant to the standard. They are arranged alphabetically according to the surname of the first author. References in the text to these citations comprise the author's name and year of publication. Only the papers cited in the text of the study shall be included in the list of references. All citations shall be referred to in the text of the paper.

If any abbreviation is used in the paper, it is necessary to mention its full form at least once to avoid misunderstanding. The abbreviations should not be used in the title of the paper nor in the summary.

The author shall give his full name (and the names of other collaborators), academic, scientific and pedagogic titles, full address of his workplace and postal code, telephone and fax number.

OBSAH – CONTENTS

Velišek J., Mikulcová R., Míková K., Kassahun B. W., Link J., Davídek J.: Chemometric investigation of mustard seed – Chemometrické hodnocení hořčičných semen	1
Kassahun B. W., Velišek J., Davídek J., Hajšlová J.: The change of cabbage (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i>) glucosinolate content during storage – Změny obsahu glukosinolátů zelí (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i>) při skladování	13
Hurtová S., Schmidt Š., Zemanovič J., Sekretár S.: Interesterifikácia tukových zmesí s alkalickými katalyzátormi – Interesterification of fat blends with alkali catalysts	25
Kalačová J., Dobiáš J., Voldřich M., Čurda D.: Celková migrace složek vybraných obalových materiálů na bázi plastů do potravinových simulantů – Overall migration of constituents of plastic packaging materials into food simulants	39
Voldřich M., Dobiáš J., Čurda D.: Head space stanovení acetaldehydu v PET preformách a lahvách používaných v České republice – Head space GC determination of acetaldehyde in PET preforms and bottles used in the Czech Republic	49
Šašek A., Bradová J., Černý J.: Hordeinové signální geny povolených českých a slovenských odrůd ječmene setého (<i>Hordeum vulgare</i> L.) – Hordein signal genes of certified Czech and Slovak varieties of barley (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	57
Hozová B., Strmiska F., Barteková Z.: Straty niektorých vitamínov skupiny B pri príprave mäsových pokrmov – Loss of some vitamins of group B in the course of preparation of meat dishes	71

INFORMACE – INFORMATION

Hledá se spolupráce s průmyslem	79
Davídek J.: EURO FOOD TOX IV “Bioactive Substances in Food of Plant Origin” 22–24 September, 1994	81

ŽIVOTNÍ JUBILEA

Voldřich M.: K významnému životnímu jubileu prof. ing. dr. Vladimíra Kyzlinka, DrSc., Dr.h.c.	83
--	----

Vědecký časopis POTRAVINÁŘSKÉ VĚDY ♦ Vydává Česká akademie zemědělských věd – Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha ♦ Redakce: Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/251 098, fax: 02/257 090 ♦ Sazba a tisk: ÚZPI Praha ♦ © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1995

Rozšiřuje Ústav zemědělských a potravinářských informací, referát odbytu, Slezská 7, 120 56 Praha 2