

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

POTRAVINÁŘSKÉ VĚDY

FOOD SCIENCES

6

ČÍSLO 13
LÉTA 1995
ISSN 0862-8653

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

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, prof. ing. Dušan Čurda, CSc.,
prof. ing. Jiří Davídek, DrSc., ing. Jan Drbohav, CSc., ing. Jiřina Houšová, CSc.,
prof. ing. Ivo Ingr, DrSc., ing. Milan Kováč, CSc., prof. ing. Jan Pokorný, DrSc.,
prof. ing. Alexander Příbela, DrSc., prof. ing. Mojmír Rychtera, CSc.,
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 price for 1995 is 210 Kc, 48 USD (Europe) and 56 USD (overseas)

Periodicity: The journal is published six times a year.

Contact address: Slezská 7, 120 56 Prague 2, Czech Republic,
tel.: 02/25 10 98; fax: 02/25 70 90; E-mail: braun@uzpi.agric.cz

TOCOPHEROL AND TOCOTRIENOL CONTENTS IN CEREAL GRAINS

Marie HOLASOVÁ, Jan VELÍŠEK¹, Jiří DAVÍDEK¹

Food Research Institute Prague; ¹Institute of Chemical Technology – Department of Food Chemistry and Analysis, Prague, Czech Republic

Abstract: Tocopherol and tocotrienol contents in wheat, rye, oats, barley and triticale grains of different genotypes and localities were determined. HPLC method was used for the determination. Vitamin E content was calculated according to the individual tocol contents and their biological activities. The results were subjected to the statistical evaluation including simple description statistics, least significance difference tests and multivariate statistical methods PCA and SLDA. The correlation of total and individual tocopherol and tocotrienol contents and vitamin E contents within and between individual cereals were determined.

tocopherols; tocotrienols; vitamin E; wheat; rye; oats; barley; triticale

There are at least eight naturally occurring vitamin E active compounds. Tocopherols (T) comprise a methylated chroman-6-ol nucleus attached at C-2 to a side chain composed of three saturated isoprene units. Tocotrienols (T₃) are similar structures whose side chains contain three double bonds. Each class consists of four isomers differing in the number and position of methyl substituents on the benzene ring.

Originally, vitamin E was considered to act mainly as the antisterility factor. At present, the antioxidant action of vitamin E, especially inhibition of lipid peroxidation in biological membranes, is being stressed. Biological activities of individual isomers differ and decline in the order α -T > β -T > γ -T > δ -T (Bourgeois, 1992). Recent evidence suggests that under certain conditions biological activity of α -T₃ might be higher than biological activity of α -T (Yamaoka et al., 1991; Serbinova et al., 1991). Recently, the data on cholesterol biosynthesis inhibiting action of α -T₃ were published (Linji et al., 1993; Qureshi et al., 1991).

Cereal grains are the second most important source of vitamin E in our diet, following the group of vegetable oils. In contrast to the majority of

vegetable oils (except palm and coconut oils) cereal grains contain both tocopherols and tocotrienols (Piiro nen et al., 1986; Balz et al., 1992; Peterson, Qureshi, 1993; Håkansson et al., 1987). Vitamin E content in cereal grains might be influenced by genetics, weather conditions during growing and harvest season, the state of maturity and handling after harvest (Piiro nen et al., 1986). Significant genotype differences in tocol content in barley, oats and wheat were found (Pettersson, Qureshi, 1993; Tegdy-Kovats, 1970).

In this study cereal grains – wheat, oats, barley, rye and triticale of different genotypes and localities were analyzed for tocopherols and tocotrienols. The results were subjected to the statistical evaluation providing thus the insight into interrelationship existing in the original data.

MATERIAL AND METHODS

Cereal grains harvested in 1994 in the Czech Republic were analyzed during spring of 1995. The samples originated in the localities Požáry, Uhřetěves and Hradec nad Svitavou were obtained from Czech University of Agriculture, Prague and Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno. Standards of α -T, β -T, γ -T and δ -T were purchased from Merck.

The grain samples were homogenized by milling. Room temperature saponification and diethylether extraction were applied for tocol isolation (Piiro nen et al., 1984). Evaporated extracts were redissolved in n-hexane and analyzed by HPLC. The equipment consisted of a liquid chromatograph HP1090 and a fluorescence detector HP 1046 A (Hewlett-Packard). Separation of tocopherols and tocotrienols was carried out on the 7 μ m Separon SGX column (Tessek) using elution mixture n-hexane : 2-propanol (99 : 1, v/v). Fluorescence detector set at 290 nm excitation and 330 nm emission was used.

The tocopherol contents were calculated from the peak areas using standard curves of tocopherols. Standards of tocotrienols are not commercially available. The tocotrienol contents were therefore calculated using standard curves of corresponding tocopherols. According to Thompson (Thompson, Hatina, 1979), there are no significant differences between fluorimetric detector responses of related tocopherols and tocotrienols. However, responses of α -T, β -T, γ -T and δ -T differ. The vitamin E content, expressed in mg of α -tocopherol-equivalents (α -TE) was calcu-

lated according to Mc Laughlin (Mc Laughlin, Weihrauch, 1979) using biological activities of 1.0 for α -T, 0.3 for α -T3, 0.4 for β -T, 0.05 for β -T3, 0.1 for γ -T, 0.01 for γ -T3 and 0.01 for δ -T.

RESULTS AND DISCUSSION

Seven samples of seven wheat genotypes, three samples of three triticale genotypes, twelve samples of six rye genotypes, ten samples of seven oats genotypes and fourteen samples of thirteen barley genotypes were analyzed. The results are summarized in Table I, giving mean values, standard deviations and 95% confidence limits for the mean of total T and T3 and vitamin E contents and for α -T, α -T3, β -T, β -T3, γ -T and γ -T3 percent contributions. The tocol levels are in good agreement with literature data (Piironen et al., 1986; Balz et al., 1992; Peterson, Qureshi, 1993).

Student's *t*-tests were performed for comparison of all possible pairs of group means at the significance levels of 0.05, 0.01 and 0.001, respectively. The achieved results are summarized in Table II. For example, it can be seen that wheat and triticale do not differ in their contents of α -T, γ -T, γ -T3 and vitamin E at the 0.05 level. Total T + T3 contents of these two grains differ at the 0.05 level, β -T3 contents differ at the level of 0.01 and α -T3 and β -T contents differ even at the 0.001 level.

The results presented in Table I were first subjected to PCA to visualize the relations between the individual variables and samples. PCA was performed by using the correlation matrix. The achieved results (Table III) show that only two principal components (PCs) explained 90.4% of the variability of the original data set. The relationship between the principal components and the original variables, for example, the variable α -T, is described by the component loading of 0.975. This is actually the correlation coefficient between the first principal component (PC1) and α -T, whilst the square of this value (ca. 0.926, 92.6%) represents the amount of shared variance (the second principal component, C2, shares only ca. 0.3% of the total variance). The extent to which PC1 explains the variance in the original data set is given by the corresponding eigenvalue of 5.04 (PC1 explains 63.0% of the total variance in the original data set). The communality of a variable is the proportion of that variables variance which is accounted for by the first two PCs. Communalities of the original variables ranged from 0.760 to 0.978 and results of PCA were thus able to provide a useful insight into the interrelationship existing in the original data set given in Table I.

I. Mean, standard deviation and 95% confidence interval of input variables

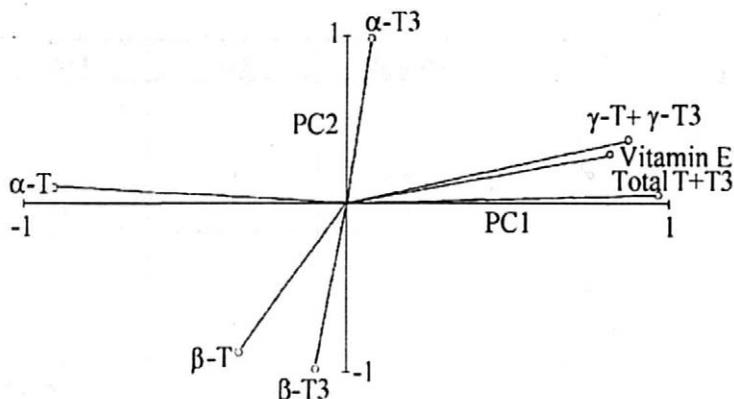
	α -T [%]	α -T3 [%]	β -T [%]	β -T3 [%]	γ -T [%]	γ -T3 [%]	Total T + T3 [mg/kg]	Vitamin E [mg/kg]
Wheat								
Mean	23.4	8.8	11.6	56.2	0.0	0.0	46.9	15.6
SD 95	3.8	1.4	1.1	6.2	0.0	0.0	5.6	2.3
Pct Conf	19.9–26.9	7.5–10.2	8.7–14.4	50.4–61.9	0.0–0.0	0.0–0.0	41.7–52.2	13.5–17.6
Triticale								
Mean	21.3	23.6	8.3	47.0	0.0	0.0	35.4	11.8
SD 95	1.1	10.0	0.8	11.5	0.0	0.0	11.2	2.8
Pct Conf	18.5–24.1	0.0–47.4	6.4–10.0	18.4–75.6	0.0–0.0	0.0–0.0	7.7–63.2	4.8–18.8
Rye								
Mean	29.0	40.2	7.3	23.5	0.0	0.0	37.6	17.1
SD 95	1.9	3.1	0.5	2.7	0.0	0.0	5.1	2.5
Pct Conf	27.8–30.2	38.2–42.2	7.0–7.6	21.8–25.3	0.0–0.0	0.0–0.0	34.4–40.8	15.5–18.7
Oats								
Mean	31.4	59.4	2.5	6.7	0.0	0.0	29.2	14.7
SD 95	3.5	2.6	0.4	1.6	0.0	0.0	6.2	2.9
Pct Conf	28.9–33.9	57.5–61.3	2.2–2.8	5.6–7.8	0.0–0.0	0.0–0.0	24.7–33.6	13.6–16.7
Barley								
Mean	16.9	55.4	1.3	8.4	6.6	10.8	67.8	23.7
SD 95	1.9	3.8	0.4	2.0	1.2	2.1	9.2	3.1
Pct Conf	15.8–18.0	53.2–57.6	1.1–1.5	7.3–9.5	5.9–7.2	9.6–12.0	62.5–73.1	21.9–25.5

II. Results of *t*-tests

Variable	Group	Wheat	Triticale	Rye	Oats
α -T	Triticale				
	Rye	***	***		
	Oats	***	***	*	
	Barley	***	*	***	***
α -T3	Triticale	***			
	Rye	***	***		
	Oats	***	***	***	
	Barley	***	***	***	*
β -T	Triticale	***			
	Rye	***			
	Oats	***	***	***	
	Barley	***	***	***	*
β -T3	Triticale	**			
	Rye	***	***		
	Oats	***	***	***	
	Barley	***	***	***	
γ -T	Triticale				
	Rye				
	Oats				
	Barley	***	***	***	***
γ -T3	Triticale				
	Rye				
	Oats				
	Barley	***	***	***	***
Total T + T3	Triticale	*			
	Rye	**			
	Oats	***		**	
	Barley	***	***	***	***
Vitamin E	Triticale				
	Rye		**		
	Oats			*	
	Barley	***	***	***	***

Pairs of groups are significantly different at the level: *0.05; ** 0.01; ***0.001

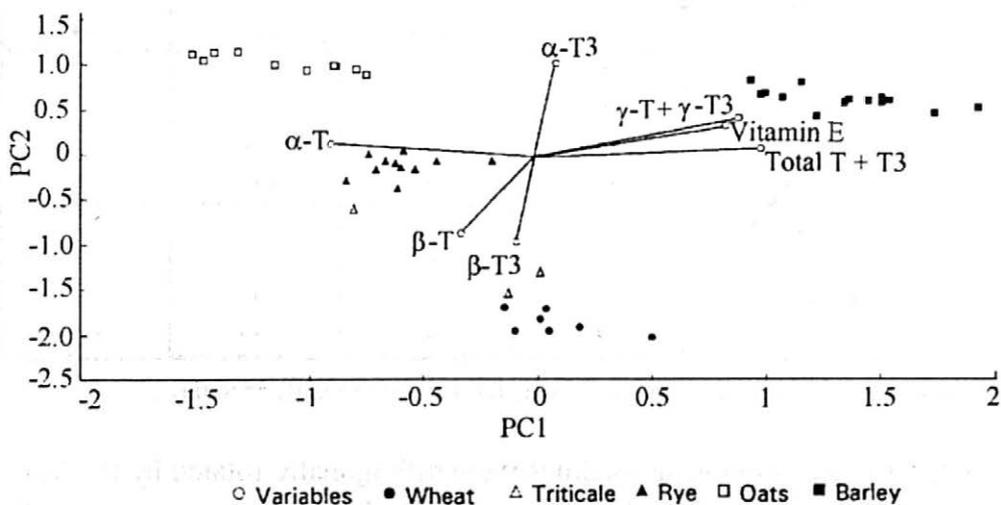
The first two component loadings were orthogonally rotated by the Varimax procedure to simplify the components loadings interpretations and the rotated loadings for all the original variables were plotted in Fig 1. It can be



1. Loadings of original variables in PC1 and PC2

seen that α -T content negatively correlated with that of vitamin E, variable α -T negatively correlated with β -T3 (for example, when a sample is rated rather high than the average for α -T it is rated rather low for β -T3), variables γ -T and γ -T3 positively correlated with each other and also with total T + T3 content.

The plot of sample scores in the first two PCs enabled a study of interrelationship existing within the total set of 45 samples analyzed (Fig. 2). As a result, the individual grain samples were located in four or five separate clusters and their relative positions could be interpreted in terms of the original variables. For example, barley samples were the most endowed in variables γ -T and γ -T3 (Fig. 1), wheat and two of the three triticale samples (triticale samples laid between the wheat and the rye samples) were the most endowed



2. Results of PCA plotted in PC1 and PC2 axes

III. Results of PCA

Input variables	Component loadings								Communality
	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	CPC8	
α -T	0.975	0.041							0.834
α -T3	-0.908	0.101							0.978
β -T	0.881	0.385							0.895
β -T3	0.877	0.383							0.973
γ -T	0.820	0.296							0.916
γ -T3	0.077	0.986							0.916
Total T + T3	-0.097	-0.982							0.952
Vitamin E	0.335	-0.885							0.760
Eigenvalue	5.04	2.19	0.47	0.16	0.08	0.05	0.01	0.00	
Variance [%]	63.0	27.4	5.8	2.0	1.1	0.6	0.1	0.0	
Total variance [%]	63.0	90.4	96.2	98.2	99.3	99.9	100.0	100.0	

in β -T3, rye samples were the most endowed in α -T and oats samples were the most endowed in both α -T and α -T3.

SLDA was done to differentiate the analyzed grain species and to find which variables were the most relevant ones to achieve the complete differentiation. Results of SLDA showed that satisfactory discrimination (percent of grouped cases correctly classified was 100) between the above five groups of grain samples was achieved employing only four original variables (Table IV). As it can be seen, γ -T3, β -T and β -T3 contents best discriminated between wheat and triticale samples, α -T3 content alone discriminated between oats and barley samples. Apparent correct classification of 97.83% (one sample of triticale was classified as a rye sample) was achieved using only the first three variables.

IV. Results of SLDA

Step no.	Action entered	Wilks' lambda	Between groups	Apparent correct classification [%]
1	α -T3	0.03871	Oats Barley	78.26
2	γ -T3	0.00180	Wheat Triticale	95.65
3	β -T	0.00128	Wheat Triticale	57.83
4	β -T3	0.00056	Wheat Triticale	100.00

The correlation of total and individual T and T3 contents and vitamin E contents are based on the results obtained during one year and their generalization needs further data.

References

- BALZ, M. – SCHULTE, E. – THIER, H. P.: Trennung von Tocopherolen und Tocotrienolen durch HPLC. *Fat Sci. Technol.*, 96, 1992: 209–213.
- BOURGEOIS, C.: Determination of Vitamin E: Tocopherols and Tocotrienols. London, Elsevier Sci. Publ. LTD 1992.
- HÄKENSSON, B. – JÄGERSTAD, M. – ÖSTE, R.: Determination of vitamin E in wheat products by HPLC. *J. Micronutr.*, 3, 1987: 307–318.
- LINJI, W. – NEWMAN, R. K. – NEWMAN, C. W. – JACKSON, L. L. – HOFER, P.J.: Tocotrienol and fatty acid composition of barley oil and their effects on lipid metabolism. *Plant Foods Human Nutr.*, 43, 1993: 9–17.
- Mc LAUGHLIN, P. J. – WEIHRAUCH, J. L.: Vitamin E content of foods. *J. Am. Dietet. Assoc.*, 75, 1979: 647–651.
- PETERSON, D. M. – QURESHI, A. A.: Genotype and environment effects on tococls in barley and oats. *Cereal. Chem.*, 70, 1993: 157–162.
- PIIRONEN, V. – VARO, P. – SYVAOJA, E. L. – SALMINEN, K. – KOIVISTOINEN, P.: High performance liquid chromatographic determination of tocopherols and tocotrienols and its application to diets and plasma of Finnish man. *Intern. J. Vit. Res.*, 53, 1984: 35–40.
- PIIRONEN, V. – SYVAOJA, E. L. – VARO, P. – SALMINEN, K. – KOIVISTOINEN, P.: Tocopherols and tocotrienols in cereal products from Finland. *Cereal. Chem.*, 63, 1986: 78–81.
- QURESHI, A. A. – CHAUDHARY, V. – WEBER, F. E. – CHICOYE, E. – QURESHI, N.: Effects of brewer's grain and other cereals on lipid metabolism in chickens. *Nutr. Res.*, 11, 1991: 159–168.
- SERBINOVA, E. – KAGAN, V. – HAN, B. – PACKER, L.: Free radical recycling and intermembrane mobility in the antioxidant properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol. *Free Radical Biol. Med.*, 10, 1991: 263.
- TELEGDY-KOVATS, L. – KRASZNER-BERNDORFER, E. – HUNYADVARI, E.: Vitamins and other biokatalysts in hungarian cereals. I. Tocopherol and tocotrienol contents of some winter wheat varieties. *Elelmezési-Ipar*, 24, 1970: 302–305.
- THOMSON, J. N. – HATINA, G.: Determination of tocopherols and tocotrienols in foods and tissues by high performance liquid chromatography. *J. Liquid Chromatogr.*, 2, 1979: 327–344.

YAMAOKA, M. – CARRILLO, M. J. H. – NAKAHARA, T. – KOMIYAMA, K.: Antioxidative activities of tocotrienol on phospholipid liposomes. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 1991: 114–118.

Received September 5, 1995

Obsah tokoferolů a tokotrienolů v obilovinách

V přírodě se vyskytuje nejméně osm sloučenin vykazujících aktivitu vitamínu E. Jsou to tokoferoly (T) s nasyceným postranním řetězcem a tokotrienoly (T3) obsahující tři dvojně vazby v postranním řetězci. Každá skupina zahrnuje čtyři isomery lišící se v počtu a poloze metylových skupin na benzenovém jádře.

V současné době je zdůrazňována antioxidační role vitamínu E, především inhibice peroxidace lipidů v biologických membránách. Biologická aktivita jednotlivých isomerů se liší.

Obiloviny jsou po rostlinných olejích druhým nejvýznamnějším zdrojem vitamínu E v naší stravě. Na rozdíl od většiny rostlinných olejů obsahují vedle tokoferolů i tokotrienoly.

V této práci byl stanoven obsah tokoferolů a tokotrienolů v pšenici, žitě, ovsu, ječmeni a triticales. Vzorky obilovin různých genotypů byly ze sklizně 1994 a pocházely z různých lokalit. Stanovení bylo provedeno metodou HPLC po alkalickém zmýdelnění při teplotě místnosti a extrakci nezmýdelnitelného podílu dietyleterem. Obsah vitamínu E byl vypočten na základě obsahu jednotlivých isomerů a jejich biologické aktivity. Výsledky byly statisticky zpracovány za použití běžných rozdílových testů a vícerozměrných statistických metod (PCA, SLDA).

Výsledky Studentova testu, kterým byly porovnány průměrné výsledky stanovení T a T3, jsou uvedeny v tab. II. Výsledky umožnily určit hladiny významnosti, na kterých se liší jednotlivé obiloviny v obsahu individuálních T a T3. Metoda PCA postihla detailně vztahy a souvislosti mezi jednotlivými obilovinami a mezi obsahem aktivních složek vitamínu E, tj. umožnila rozlišení jednotlivých obilovin na základě charakteristického obsahu T a T3. Pomocí metody SLDA se podařilo určit T a T3 významné z hlediska rozlišení mezi jednotlivými druhy obilovin.

tokoferoly; tokotrienoly; vitamin E; pšenice; žito; oves; ječmen; triticales

Kontaktní adresa:

Ing. Marie Holasová, CSc., Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10, Česká republika, tel.: 02/702 331, fax: 02/701 983

INSTITUTE OF AGRICULTURAL AND FOOD INFORMATION
Slezská 7, 12056 Praha 2, Czech Republic

Fax: (0042 4) 257 090

In this institute scientific journals dealing with the problems of agriculture and related sciences are published on behalf of the Czech Academy of Agricultural Sciences. The periodicals are published in the Czech or Slovak languages with summaries in English or in English with summaries in Czech or Slovak.

Subscription to these journals be sent to the above-mentioned address

Journal	Number of issues per year	Yearly subscription in USD	
		Europe	overseas
Rostlinná výroba (Plant Production)	12	148,-	154,-
Živočišná výroba (Animal Production)	12	148,-	154,-
Zemědělská ekonomika (Agricultural Economics)	12	148,-	154,-
Lesnictví – Forestry	12	148,-	154,-
Veterinární medicína (Veterinary Medicine – Czech)	12	115,-	120,-
Potravinářské vědy (Food Sciences)	6	66,-	70,-
Zemědělská technika (Agricultural Engineering)	4	44,-	46,-
Ochrana rostlin (Plant Protection)	4	44,-	46,-
Genetika a šlechtění (Genetics and Plant Breeding)	4	44,-	46,-
Zahradnictví (Horticultural Science)	4	44,-	46,-

EXTRACTION OF DIGESTIVE ENZYMES FROM VISCERA OF CARP

Milena KMÍNKOVÁ, Zdeněk MOUČKA, Jiří KUČERA

Food Research Institute Prague, Prague, Czech Republic

Abstract: The methods of extraction were compared for the preparation of the most frequent digestive enzymes of carp viscera. As digestive enzymes acid and alkaline protease, amylase and alkaline phosphatase were studied. Acetone powder preparation, osmotic shock, two-phase extraction (1-butanol-buffer), single-phase extraction with the buffer saturated with 2-butanol and extraction at high ionic strength were used as extraction methods. Hepatopancreas was extracted with acid as well, similarly to the method used for the preparation of porcine trypsinogen and chymotrypsinogen but formic acid was used instead of sulphuric acid. Almost equally good results in respect of the yield and specific activity of the above enzymes were obtained using the buffer saturated with 2-butanol or formic acid. The highest specific activities were obtained by the extraction with the buffer of high ionic strength.

digestive enzymes; extraction; viscera; carp

Digestive enzymes are commercially produced by the extraction of viscera of warm-blooded animals. This source is limited in principal and the demand for digestive enzymes is growing steadily. The viscera of fish, on the other hand, are discarded uselessly and, moreover, are known as very serious wastes. Nevertheless, many of the digestive enzymes were detected in fish viscera. The digestive enzymes were found to be of comparative composition in different fylogenetic species, including fish (Lvova, 1987). Amylase and trypsin, for instance, were detected in carp (Paláčková et al., 1988) and pepsin was separated from stomach mucosa of salmon as early as in 1940 (Norris et al., 1940).

The work presented here was focused on the method of extraction of some of the digestive enzymes from carp intestine and hepatopancreas. The extraction protocol was selected to reach the maximum yield of the enzymes.

MATERIAL AND METHODS

The carp viscera were obtained from the Research Institute of Fisheries, Vodnany, or, in larger amount, from Fisheries a.s., Lahovice. The viscera

were frozen immediately after resection and saved at $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ before use. All the reagents used were the products of Lachema Brno, reagent grade.

Amylolytic activity was determined according to Bernfeld (Meyer et al., 1947), activity of alkaline protease was determined according to Slavík and Smetana (1952), activity of acid protease was determined according to Anson (1938) and activity of alkaline phosphatase was determined using p-nitrophenyl phosphate with the set of reagents Bio-La-Test alkaline phosphatase produced by Lachema Brno.

All the extraction experiments were carried out in cold room at $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

The frozen viscera were left to thaw at $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ overnight before homogenization and extraction. The extraction methods used were:

- A) Lyophilization: the viscera were homogenized in the equal volume of 0.1 M phosphate buffer pH 6.5 at 5°C and lyophilized.
- B) Acetone powder: the viscera were homogenized in two volumes of 0.1M phosphate buffer pH 6.5 and homogenate was first cooled to $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ and then slowly dropped to ten volumes of acetone cooled to $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. The suspension was stirred one hour and centrifuged. The precipitate was washed three times with two volumes of cold acetone ($-15\text{ }^{\circ}\text{C}$) and dried on filter paper.
- C) Acetone extraction of lyophilized viscera: lyophilized viscera were stirred in two volumes of acetone for 1 hour at $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. The precipitate was washed and dried in the same way as in method B.
- D) Two-phase extraction: the viscera were homogenized in two volumes of 0.1M phosphate buffer pH 5.7 and cooled to $5\text{ }^{\circ}\text{C}$. 1-butanol was then added under stirring to the final concentration of 20%. The suspension was then stirred additional 3 hours at $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ and centrifuged. Upper organic layer was separated and the aqueous layer centrifuged once more. The supernatant (fraction A) was separated and the precipitate was reextracted in the same way giving fraction B. Both fractions were pooled and desalted by ultrafiltration prior to lyophilization.
- E) Osmotic shock: the viscera were homogenized in two volumes of tap water and the homogenate was dialysed for 24 hours against running tap water and then for 24 hours in twenty volumes of distilled water with three changes. Then, solid sodium chloride was added to the final concentration of 0.15M and the solution was left in cold room overnight. The sediment

was then separated by centrifugation and discarded. Clear supernatant was desalted and concentrated by ultrafiltration and lyophilized.

- F) Extraction of hepatopancreas with acid: hepatopancreas was homogenized in two volumes of dist. water and the pH was adjusted to the value of 4.2 with formic acid. The acidified homogenate was stirred 30 minutes at 30°C, cooled to room temperature and centrifuged. Clear supernatant was desalted by ultrafiltration and lyophilized.
- G) Extraction of intestine with buffer of high ionic strength: intestine was homogenized in two volumes of 2M ammonium sulphate in 0.1 M carbonate buffer pH 7.6 and the homogenate was stirred 1 hour at 5 °C. The homogenate was then filtered through cotton cloth and 20 g of Celite were added to each 1 liter of homogenate. The suspension was then filtered under suction and the clear filtrate was desalted by ultrafiltration and lyophilized.
- H) Single-phase extraction with homogenous 2-butanol/buffer mixture: the homogenization and extraction were carried out in the same way as in two-phase method (D), but after homogenization in buffer 2-butanol was added to the final concentration of 5%.

RESULTS AND DISCUSSION

The protein concentration and enzyme activities of selected digestive enzymes of carp were determined in each extract. The results obtained in the extraction of hepatopancreas are given in Table I and those obtained in the extraction of carp intestine in Table II.

The alkaline protease of hepatopancreas was most effectively extracted by the use of acid (method F), which is similar to the method most frequently used for the extraction of digestive enzymes from porcine and bovine pancreas (Laskowski, 1955). Extraction with buffer saturated with 2-butanol (method H) seems to be most efficient for the extraction of alkaline protease from carp intestine. The two-phase method (D) is equally efficient for the extraction of alkaline protease and alkaline phosphatase from both, the hepatopancreas, as well as, the intestine. Hepatopancreas and the intestine are low in acid protease. Carp, as typical stomachless fish, has relatively high pH in the upper part of intestine (pH 4.6) and, therefore, has a very low concentration of pepsin. The presence of acid pepsin-like protease in hepa-

I. Protein concentration and enzyme activity in extracts of carp hepatopancreas prepared by different extraction methods

Method ^a		A	B	C	D	E	F
Yield ^b		26.65	13.04	15.05	3.2	0.5	5.0
Protein	mg/g dry matter	389.6	342.0	143.6	396.0	592.0	680.0
	total g	10.23	4.58	2.16	1.27	0.3	3.4
Acid protease	U/g dry matter	9.27	7.84	12.9	26.7	106	14.6
	total U	247	105	194	85.4	53.0	42.0
	spec. activity U/mg protein	0.02	0.02	0.09	0.07	0.18	0.02
Protease alk.	C.u./g dry matter	503	101	92	3 894	14 582	13 032
	total C.u. ^c	13 421	1 356	1 381	12 460	7 291	65 180
	spec. activity C.u./mg protein	1.29	0.3	0.64	9.84	24.6	19.1
Phosphatase alk.	U/g dry matter	526	238	226	2 330	4 228	759
	total U	14 000	3 189	3 189	7 456	2 114	3 794
	spec. activity U/mg protein	1.35	0.7	1.57	5.88	7.14	5.57
Amylase	U/g dry matter	1 632	638	900	827	2 792	9
	total U	43 490	8 550	13 545	2 646	1 396	46
	spec. activity U/mg protein	4.19	1.87	2.63	2.09	4.71	0.07

^a see Material and Method

^b yield is calculated as the amount of dry matter (in grams) extracted from 100 g of crude material

^c casein units according to the method Slavík and Smetana (1953)

topancreas is low as well. Then no extraction method was found to be convenient for extraction of such a low pepsin concentration.

Highest specific activity of alkaline protease extracted from carp hepatopancreas was obtained using osmotic shock (method E), but total activity extracted was low in this case. The specific activity of pancreatic alkaline protease extracted by the method E was as high as 24.6 U/mg protein. The specific activity of 19.1 U/mg protein was determined for alkaline protease extracted from hepatopancreas with acid (method F). The yield of this enzyme extracted by method E was 54.3 % of total activity found in viscera and 100% in the case of method F. The difference in specific activity is not

II. Protein concentration and enzyme activity in extracts of carp intestine prepared by different extraction methods

Method ^a		A	B	D	E	G	H
Yield ^b		17.33	5.86	9.23	7.76	2.1	5.96
Protein	mg/g dry matter	386	392	364	618	712	626
	total g	6.69	2.3	3.36	4.8	1.5	3.73
Acid protease	U/g dry matter	85.5	76.6	147.9	92.6	7.1	–
	total U	1 482	449	1 365	719	150	–
	spec. act. U/mg protein	0.22	0.1	0.4	0.15	0.1	–
Protease alk.	C.u./g dry matter	819	635	286	432	18 246	6 443
	total C.u. ^c	14 199	3 723	2 644	3 360	38 316	24 034
	spec. act. C.u./mg protein	2.12	1.62	0.78	0.7	25.54	6.44
Phosphatase alk.	U/g dry matter	693	532	2 743	2 113	5 428	2 798
	total, U	12 017	3 116	25 320	16 401	11 400	16 673
	spec. activity U/mg protein	1.79	1.35	7.54	3.42	7.6	4.47
Amylase	U/g dry matter	2 532	1 419	206	1 346	5 840	–
	total U	43 881	8 317	1 899	10 447	12 264	–
	spec. activity U/mg protein	6.56	3.62	0.56	2.18	8.18	–

^a see Material and Methods

^b yield is calculated as the amount of dry matter (in grams), from 100 g of crude material

^c casein units according to the method Slavík and Smetana (1953)

as high as the difference in the extracted total activity. The highest specific activity of hepatopancreatic alkaline phosphatase was determined in the extract obtained by osmotic shock, but the extracted total activity was very low. The comparable specific activity was determined in the extract obtained by butanol-buffer mixture (methods D and H) and with acid (method F), but the highest total activity was obtained by method D.

The best method for extraction of alkaline protease from intestine is that using high ionic strength (method G) giving relatively high yield with the specific activity, as high as, 25 U/mg. Alkaline phosphatase was most effi-

ciently extracted by the methods D or H with respect to both the total activity obtained, as well as, specific activity of the product.

No method gave satisfactory results for the extraction of amylase from both viscera sources the hepatopancreas, as well as, the intestine. The activity of amylase in both organs was found to be relatively low. Lipase was not detected.

Carp intestine, as well as, carp hepatopancreas were found as a good source of alkaline protease and alkaline phosphatase. For both enzymes the extraction under acidic conditions may be used. The extraction with butanol-buffer mixture seems to be most suitable for the separation of alkaline phosphatase and the extraction at high ionic strength gave much better results when used in the extraction of alkaline protease from carp intestine.

Carp hepatopancreas and intestine were found to be equally good sources of alkaline phosphatase and alkaline protease. The identical methods of extraction may be used for the preparation of both enzymes from both sources giving comparable yields and specific activities. Separation of the individual organs, as a consequence, is not necessary. The same seems to be true of amylase and acid protease, but the levels of these enzyme activities are relatively low in carp hepatopancreas, as well as, in carp intestine.

References

- ANSON, M. L.: Estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with haemoglobin. *J. Gen. Physiol.*, 22, 1938: 79–89.
- LASKOWSKI, M.: Chymotrypsinogens and chymotrypsins. *Meth. Enzymol.*, 2, 1955: 8–36.
- LVOVA, S. P.: O prirode pirimidinovo substrata 6,7-dimetil-8-ribitill jumazinsintazy, učastvujušej v biosynteze riboflavina iz drožžej. *Ukr. Biokhim. Zh.*, 59, 1987: 80–83.
- MEYER, K. H. – FISCHER, E. H. – BERNFELD, P.: Sur les enzymes amylolytiques (I). *Helv. Chim. Acta*, 30, 1947: 64–78.
- NORRIS, E. R. – ELAM, D. W.: Preparation and properties of crystalline salmon pepsin. *J. Biol. Chem.*, 134, 1940: 443–54.
- PALÁČKOVÁ, J. – JIRÁSEK, J. – SVOBODOVÁ, I.: Aktivita trávicích enzymů kapřího plůdku (*Cyprinus carpio*) při různé teplotě. *Živoč. Vyr.*, 33, 1988: 889–895.
- SLAVÍK, K. – SMETANA, R.: Stanovení aktivity proteolytických enzymů biuretovou reakcí. *Chem. Listy*, 46, 1952: 649–50.

Received May 17, 1995

Extrakce digestivních enzymů z vnitřností kapra

Byly porovnány vybrané metody extrakce digestivních enzymů kapra z hepatopankreatu a střev. Jako digestivní enzymy byly studovány kyselé a alkalické proteasy, amylasy a alkalická fosfatasa. Za metody extrakce byly zvoleny: příprava acetonového prášku, osmotický šok, dvoufázová extrakce (butanol – pufr), jednofázová extrakce puftrem nasyceným 2-butanolem a extrakce při vysoké iontové síle. Hepatopankreas jsme tako extrahovali v kyselém prostředí analogicky metodám používaným při izolaci vepřového trypsinogenu a chymotrypsinogenu, přičemž jsme s ohledem na stabilitu enzymů kapra použili kyselinu mravenčí místo obvyklé kyseliny sírové. Při extrakci proteas z hepatopankreatu (tab. I) bylo dosaženo velmi dobrého výtěžku a přijatelné specifické aktivity jak extrakcí v kyselém, tak při extrakci puftrem s 2-butanolem. Nejvyšší specifické aktivity (ale nižšího výtěžku) bylo dosaženo při použití vysoké iontové síly. Podobně tomu bylo i při extrakci enzymů ze střev (tab. II). Celkově je obsah proteas a amylas ve střevech nižší, zatímco obsah alkalické fosfatasy je vyšší než v hepatopankreatu.

digestivní enzymy; extrakce; vnitřnosti; kapr

Contact address:

Ing. Milena Kmínková, Výzkumný ústav potravinářský Praha,
102 31 Praha 10, Radiová 7, Česká republika, tel.: 02/702 331, fax: 02/701 983

Ústav zemědělských a potravinářských informací

vydá v roce 1996 následující

POTRAVINÁŘSKÉ PUBLIKACE NEPERIODICKÉ

Metody detekce a prevence patogenních mikroorganismů v potravinách a v prostředí potravinářských závodů

(E. Jičínská – J. Havlová)

Asi 80 stran, předběžná cena 140 Kč

Publikace navazuje na titul „Patogenní mikroorganismy v mléce . . .“.

Uvádí současné názory na požadavky bezpečnosti potravin a seznámí čtenáře s problematikou zajišťování jejich zdravotní nezávadnosti

Výživa ve stáří

(J. Dostálová – B. Turek)

Asi 60 stran, předběžná cena 85 Kč

Asi 100 stran, předběžná cena 150 Kč

Publikace je určena nezdravotnické veřejnosti (odborné i laické), především těm, kteří chtějí aktivně přispět k zavádění různých „stravovacích“ programů pro starší generaci.

Potravinářství '96

(L. Benešová a kol.)

Připravovaný sborník svým obsahem volně navazuje na předchozí tři svazky. Zájemci zde najdou informace o nejrůznějších aktuálních potravinářských tématech.

Uvedené publikace můžete objednat na adrese:

Ústav zemědělských a potravinářských informací

Londýnská 55

P.O. Box 39

120 00 Praha 2

tel.: 02/250 051-4, fax: 02/663 128 12

MECHANICAL PROPERTIES OF SWEET AND SOUR CHERRIES DETERMINED BY COMPRESSION BETWEEN TWO PLATES

Jiří BLAHOVEC, Jan JESCHKE¹, Milan HOUŠKA¹, František PAPRŠTEIN²

Department of Physics, University of Agriculture, Prague-Suchdol;

¹*Food Research Institute Prague, Prague;*

²*Research and Breeding Institute of Fruits, Holovousy, Czech Republic*

Abstract: A compression test between two plates has been used for testing the mechanical properties of 24 varieties of sweet and sour cherries. The first part of compression curve, which relates force and compression strain, can be described by a power relation. The exponent of this relation has an approximate value 3/2 for firmer cherries (e.g. hard sweet cherries) and higher values for softer cherries (mostly sour cherries). Localization of skin damage that appears on deformed fruit surface at high strain values strongly correlates with the slope of the initial part of corresponding compression curve. Further relations between the observed quantities are briefly discussed.

cherries; mechanical properties; compression test; skin rupture; compression curve

Quality of harvested cherries is considerably dependent on both mechanical and textural properties. This trivial statement has a special meaning in the case of mechanized fruit harvesting where a considerable portion of fruit may be mechanically damaged. Mechanical properties vary with cultivar. Therefore, mechanical properties of cherry fruits of different varieties can be used in selection of those cultivars most suitable for mechanical harvesting. Mechanical properties of cherries are most often evaluated by compression between two plates (Patten, Patterson, 1985a, b; Blahovec et al., 1991a).

Compression tests between two plates have been also used in the present study to evaluate the fruit of a large group of varieties.

MATERIAL AND METHODS

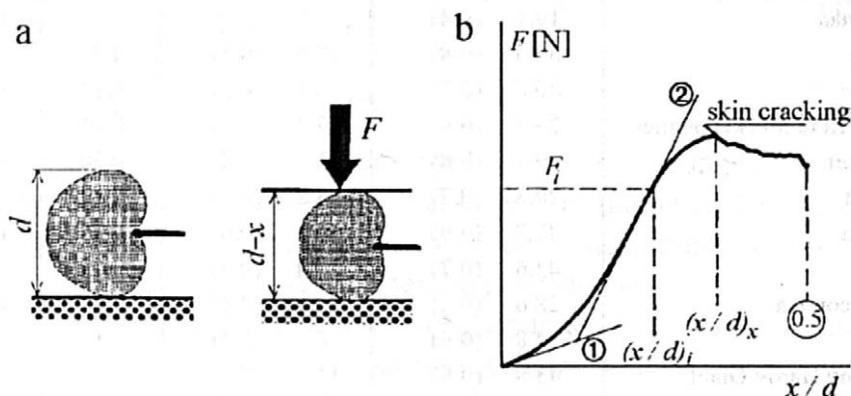
Fruits of 24 varieties of sweet and sour cherries were harvested from the experimental orchards of the Research and Breeding Institute of Fruits at Holovousy in a limited experiment in 1989 repeated in 1990. Fruits were transported in plastic bags to the Prague laboratory of Research Institute of

Food Industry on the same day, stored in refrigerator (at approximately 10 °C) and tested within 36 hours. Table I summarizes the tested varieties and also gives some of their characteristics.

I. Basic characteristics of tested fruits (DR – date of ripening in cherry weeks for 1990 and 1989*)

Sort type and variety	DR	Mean fruit dimension		
		diameter [mm]	mass in grams	
			total	flesh
Sweet cherries (<i>Prunus avium</i> L.)				
“heart” (var. <i>juliana</i> L.)				
Karešova	2	20.0	6.21	5.74
	*2	19.2	5.98	5.52
Kaštánka	2	18.2	4.38	4.04
“semihard” (var. <i>duracina</i> L. x var. <i>juliana</i> L.)				
Burlat	2	20.1	6.71	6.31
Büttner	5	18.3	3.86	3.49
Frühe Rote Meckenheimer	2	20.9	7.10	6.63
Lambert	6	20.2	5.62	5.08
Moreau	*2	21.2	5.95	5.38
“hard” (var. <i>duracina</i> L.)				
Granát	4	18.3	4.99	4.65
Kordia	6	19.5	5.65	5.23
	*6	21.1	6.41	5.94
Napoleonova	5	18.5	4.83	4.43
	*5	21.1	6.44	5.98
Starking Hardy Giant	5/6	21.3	5.02	4.51
Schneiderova (Thurn-Taxis)	6	21.5	7.42	6.90
Sam	5	19.4	5.47	5.00
Stella	*5/6	23.1	8.70	8.16
Stella Compact	6	21.7	6.46	6.03
Těchlovická	*5/6	20.5	6.50	6.05
Van	5	19.8	5.28	4.93
Sour cherries (<i>Prunus Cerasus</i> L. subsp. <i>eucerasus</i> A. GR., var. <i>austera</i> L.)				
Érdi bötermő	6	19.4	5.15	4.69
Fanal	7	18.3	4.74	4.20
Körösi	7	19.2	4.34	3.81
Montmorency	*5/6	19.6	5.35	
Morellenfeuer	8	16.2	3.98	3.60
North Star	7	16.4	4.22	3.87
	*7	16.0	3.42	
Záhoračka	5	17.5	3.70	3.24
	*5	17.4	3.16	

Sets of 20–30 perfect and full coloured cherries of each variety were used for compression testing of individual fruits between two plates as shown in Fig. 1. In all cases, the rate of deformation was always the same, 0.83 mm/s and was stopped at the compression strain $x/d = 0.5$. All fruits were compressed without destemming (the stems of fruits were only shortened to the length approximately 5 mm). Position of the fruit during its testing between two plates is clearly shown in Fig. 1a. A typical compression curve which is obtained for every compressed fruit as the dependence of compression force F and compression strain x/d (as the ratio of actual deformation of the fruit and its initial diameter), is plotted in Fig. 1b. Compression curves have three important points, i.e. initial point, point of inflexion, which is denoted by index i , and point of skin rupture or cracking, which is denoted by index x .



1. Scheme of fruit compression test between two plates. a) Fruit with initial diameter (d) is compressed at constant strain rate by variable compression force F . b) So called compression curve, i.e. the plot of force F vs. compression strain x/d . The experiment is stopped at compression strain 0.5. Point of inflexion on the compression curve has coordinates $(x/d)_i$ and F_i ; the linear approximation of initial part of the compression curve (for x/d less than 0.1) by equation $F = a_1 + b_1 x/d$ gives the slope of the initial part of compression curve b_1

Evaluation procedures for compression curves are given in Fig. 1b and these are described in its legend. Values of compression strain corresponding to skin rupture point were also evaluated by observation of the fruit surface during fruit compression. Detailed examination of fruit surface after deformation revealed which parts of the skin were damaged. A substantial portion of the compression curve, from the beginning nearly to the point of inflexion, can be described by the following relationship (Blažovc et al., 1991a):

$$F = a_3 (x/d)^k \quad [1]$$

where a_3 and k are parameters determined for each compression curve using the least-squares method. Parameter a_3 can be understood as compression force corresponding to hypothetical full compression of the fruit (for $x/d = 1$). Parameter k is exponent, its increasing value (for k higher than 1) indicates increasing curvature of the corresponding deformation curve.

II. Data obtained by compression of fruits between two plates at constant strain rate. Numbers in brackets denote standard errors of corresponding mean values ($\alpha = 0.5$). Characteristic deformations, i.e. inflexion strain and rupture strain, are dimensionless (Fig. 1). Standard errors of characteristic deformations are less than 0.01 for every data in this table

Variety	Initial slope of the curve [N]		Point of inflexion		Rupture strain	
			force in Newtons	strain		
Sweet cherries						
Karešova	26.2	(0.6)	8.0	(0.3)	0.20	0.44
*			6.5	(0.2)	0.20	
Kaštánka	19.1	(0.4)	5.5	(0.2)	0.21	0.46
Burlat	34.5	(0.8)	12.5	(0.3)	0.21	0.40
Büttner	36.6	(0.7)	6.1	(0.3)	0.13	0.48
Frühe Rote Meckenheimer	23.3	(0.6)	7.4	(0.2)	0.21	0.43
Lambert	39.7	(0.8)	13.1	(0.3)	0.20	0.36
Granát	29.8	(0.7)	8.2	(0.2)	0.19	0.43
Kordia	47.7	(0.9)	17.2	(0.6)	0.20	0.44
*	43.6	(0.7)	12.4	(0.4)	0.18	0.41
Napoleonova	28.6	(0.4)	13.0	(0.4)	0.24	0.45
*	34.8	(0.6)	8.6	(0.4)	0.18	0.47
Starking Hardy Giant	43.8	(0.8)	11.7	(0.4)	0.17	0.36
Schneiderova	38.5	(0.9)	17.4	(0.4)	0.24	0.37
Sam	37.6	(0.8)	6.6	(0.2)	0.13	0.44
* Stella	37.9	(0.8)	10.0	(0.3)	0.18	0.41
Stella Compact	36.1	(0.6)	15.0	(0.5)	0.22	0.40
* Těchlovická	28.2	(0.5)	9.0	(0.4)	0.20	0.41
Van	38.0	(0.6)	10.2	(0.3)	0.17	0.43
Sour cherries						
Érdi Bőtermő	14.4	(0.3)	4.5	(0.1)	0.27	0.43
Fanal	13.7	(0.3)	5.3	(0.2)	0.29	0.48
Körösi	15.0	(0.3)	5.5	(0.2)	0.26	0.47
* Montmorency	8.4	(0.1)	3.8	(0.1)	0.27	0.43
Morellenfeuer	12.5	(0.3)	4.7	(0.2)	0.27	0.47
North Star	17.4	(0.2)	5.5	(0.1)	0.23	0.43
*	7.8	(0.2)	3.8	(0.2)	0.28	0.47
Záhoračka	14.0	(0.3)	6.8	(0.2)	0.30	0.49
*	9.4	(0.2)	7.1	(0.3)	0.34	0.41

* denotes 1989 results

RESULTS

Basic fruit characteristics of tested cultivars are presented in Table I. Table II contains the mean values obtained by evaluation of the compression curves for different fruit varieties. Data concerning localization of skin damage and prevailing damage are summarized in Table III: type (1) near the fruit stem, type (2) at the fruit tip, type (3) on the fruit side. The prevailing form of damage in each variety was classified according to type when more than 50% of the damaged fruits in a set have the same type of injury. In a few varieties where the damage could not be classified unambiguously a zero was recorded. Most fruit cracks that appear during fruit compression between two plates are cracks of type 1. Type 3 (on the side of the fruits) were least frequent but they were more common in sour cherries than in sweet cherries. Mean values of parameters a_3 and k obtained from the regression relationship [1] are given in Table IV.

DISCUSSION

Relationships between measured quantities are very complex. There are very close and logical relationships between fruit diameter, fruit mass and flesh mass (mass of fruit minus mass of seed). These relationships are increasing functions with positive correlation coefficients.

Quantities given in Tables II–IV can be separated into two groups according to the signs of the mutual correlation coefficients: those comprising compression strains at point of inflexion $(x/d)_i$ and at skin rupture point $(x/d)_x$, exponent k and relative representations of skin cracks at the tip and on the side of fruit, on one side and the other quantities on the other side. A characteristic feature of the values included in both of these groups is the sign of correlation coefficient which corresponds to the relationship between quantities in one group and quantities belonging to different groups. All correlation coefficients of relationships between quantities inside one group are positive in regard to the statistically significant relationships, whereas, the relationships between quantities belonging to different groups are characterized by a negative correlation coefficient. This means that virtually all relationships between quantities inside one group are increasing functions, while relationships between quantities belonging to different groups are decreasing functions. This means, among other things, that an increase in fruit size causes an increase in the slope of compression curve, and in force corresponding to the point of inflexion. However, under the same conditions,

III. Localization of skin damage on fruit following compression (strain about 50%) between two plates. Cracks were classified as types: 1 – near fruit stem, 2 – near fruit tip, and 3 – on the sides of the fruit. Zero was used when the prevailing type of fruits damage cannot be determined

Variety	Percentage			Prevailing type
	type 1	type 2	type 3	
Sweet cherries				
Karešova	63.9	13.9	22.2	1
Kašánka	27.8	58.3	13.9	2
Burlat	21.7	26.7	51.6	3
Büttner	69.0	17.2	13.8	1
Frühe Rote Mecken.	62.0	20.0	18.0	1
Lambert	40.4	8.5	51.1	3
* Moreau	80.0	0.0	20.0	1
Granát	36.4	60.6	3.0	2
Kordia	93.8	0.0	6.2	1
*	71.1	2.6	26.5	1
Napoleonova	30.6	52.8	16.6	2
*	67.6	17.6	14.8	1
Starking Hardy Giant	61.4	29.5	9.1	1
Schneiderova	67.6	5.9	26.5	1
Sam	76.5	14.7	8.8	1
* Stella	42.6	18.5	38.9	0
Stella Compact	35.4	14.6	50.0	3
* Těchlovická	17.9	76.9	5.2	2
Van	51.4	48.6	0.0	1
Sour cherries				
Érdi Bötermő	0.0	47.6	52.4	3
Fanal	33.3	31.1	35.6	0
Körösi	16.7	63.9	19.4	2
* Montmorency	17.8	44.4	37.8	0
Morellenfeuer	2.9	40.0	57.1	3
North Star	0.0	84.4	15.6	2
*	17.8	44.4	37.8	0
Záhoračka	15.8	23.7	60.5	3
*	6.6	31.7	61.7	3

* denotes 1989 results

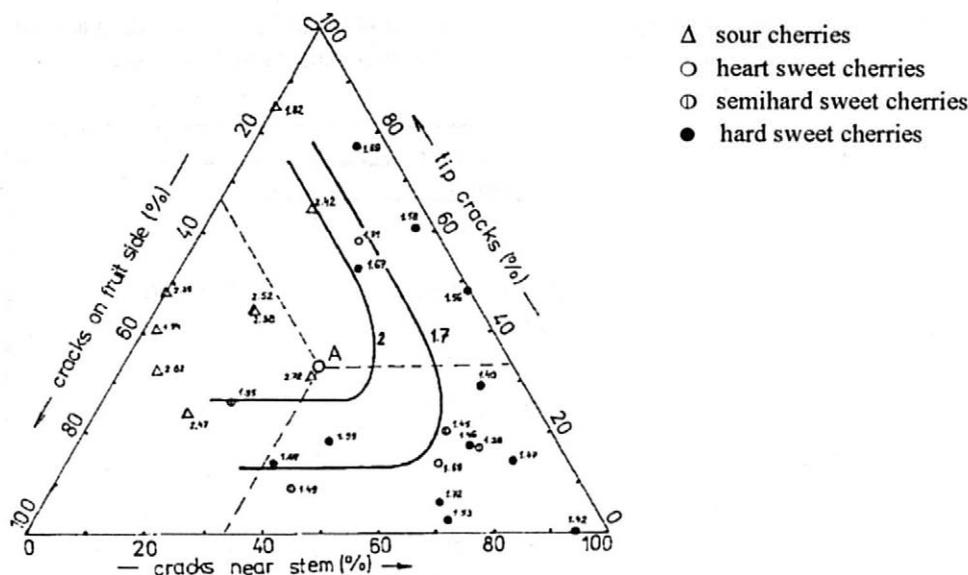
compression strain at the point of inflexion as well as compression strain at point of skin rupture decrease. Increasing fruit diameter leads to a greater frequency of cracks on fruit side as opposed to cracks near the stem insertion (see also Bla h o v e c et al., 1991b).

IV. Mean values of parameters in the power relationship [1] obtained by the regression analysis of the initial parts of compression curves. Numbers in brackets denote standard errors of corresponding mean values ($\alpha = 0.5$)

Variety	a_3 in Newtons	k
Sweet cherries		
Karešova	125.3 (3.5)	1.69 (0.03)
Kaštánka	78.7 (1.6)	1.71 (0.03)
Burlat	275.3 (6.0)	1.95 (0.02)
Büttner	82.8 (1.7)	1.28 (0.02)
Frühe Rote Meecken.	117.6 (3.2)	1.75 (0.03)
Lambert	147.9 (3.0)	1.49 (0.02)
Granát	118.6 (2.7)	1.58 (0.03)
Kordia	170.4 (2.8)	1.42 (0.02)
*	181.6 (4.1)	1.53 (0.02)
Napoleonova	140.7 (2.3)	1.67 (0.03)
*	107.0 (2.6)	1.46 (0.02)
Starking Hardy Giant	140.1 (2.8)	1.40 (0.02)
Schneiderova	199.0 (3.0)	1.72 (0.03)
Sam	132.8 (1.6)	1.47 (0.02)
* Stella	113.4 (2.7)	1.59 (0.02)
Stella Compact	189.8 (4.6)	1.69 (0.03)
* Těchlovická	113.4 (2.2)	1.59 (0.02)
Van	160.2 (2.8)	1.56 (0.02)
Sour cherries		
Érdi Böttermö	104.7 (2.5)	2.39 (0.04)
Fanal	161.6 (5.1)	2.72 (0.10)
Körösi	141.8 (4.2)	2.42 (0.03)
* Montmorency	103.3 (1.9)	2.52 (0.03)
Morellenfeuer	63.9 (2.7)	1.94 (0.05)
North Star	81.4 (1.3)	1.82 (0.03)
*	81.7 (3.1)	2.38 (0.05)
Záhoračka	134.8 (4.1)	2.47 (0.05)
*	156.2 (5.1)	2.82 (0.04)

* denotes 1989 results

More complicated relationships between the mechanical parameters and the location of the skin damage is illustrated in Fig. 2, where exponent k is plotted in triangle coordinates describing the percentage of different types of skin damage. It seems that the highest values of exponent k are obtained for fruits for which all three types of skin damage appear with approximately the same probability (about 30%). In this case no part of the fruit surface can be



2. Triangle representation of skin damage. Three sides of triangle are used as scales for different types of damage (see also Table III). Every point of the triangle determines one real possibility. Use of triangle scales is shown for point A denoting the same percentage (33.33%) of all three types of cracks. The obtained results are denoted by special symbols with corresponding values of exponent k – see Eq. [1]. Mutual relation between the exponent k and the occurrence of different types of skin damage is tentatively marked by the curves of the same values of k (for k 1.7 and 2)

more preferable from mechanical point of view; i.e. stem parts and tips play approximately the same role as the side parts of the compressed fruits. Exponent k decreases with decreasing representations of damage at the fruit tip and on the fruit side. Possible decrease of exponent k with decreasing representation of damage near the stem, if exists, is not too strong. Very similar distribution in the above mentioned triangular coordinates can be obtained for the initial slope of compression curve; but the localization is strictly opposite. The lowest values about 10 N are in the middle of the triangle and the highest values about 40 N lie in its right corner.

Exponent k of Eq. [1] for $(x/d)_i$ lower than 0.2 is almost constant and equal approximately to 3/2. For $(x/d)_i$ higher than 0.2 k increases with increasing value of $(x/d)_i$. The value 3/2 of the exponent k is a theoretical value for Hertz theory of contact of round homogeneous elastic bodies (Johnson, 1985). It seems that the compression of fruits characterized by $(x/d)_i$ higher than 0.2 is described by non-Hertzian relationship [1] with the values of k higher than 1.5 and lower than 4.2, i.e. the value calculated for compression of spherical membrane filled with a liquid (Blahovec, 1991).

This behaviour is typical of smaller and softer fruits, e.g. sour cherries and some early sweet cherries. Cracks of skin near the fruit stem or near fruit tip are not usually preferred in this case. Late sweet cherries, which are usually hard, give compression curves with higher initial slopes and lower exponents k . Skin crackings are observed near the fruit stem or near the fruit tip. It is interesting that differences in compression behaviour that can be observed at the beginning of a compression curve, e.g. initial slope of compression curve or exponent k , determine also its final part with location of cracks of skin.

Conclusions

Firmness of raw sweet and sour cherries can be determined by inspection of the first part of compression curve when the compression test between two plates is used. Firmness could be measured either by initial slope of compression curve or by exponent k of power equation used for its approximation. For small soft fruits the following values were obtained: slope of the initial part of compression curve about 10 N and parameter k about 2.5. For most hard fruits initial slope of compression curve moves in range 40–50 N and parameter k is about 1.5. Compressed fruits crack at strains higher than 35%, higher values are usually observed for softer varieties. For soft fruits cracks are uniformly distributed on the equator of the compressed fruits. Skin of harder fruits cracks mostly at the fruit stem or at the fruit tip.

References

- BLAHOVEC, J.: Stlačování dužnatého plodu s tuhou slupkou mezi dvěma deskami – matematický model. *Zeměd. Techn.*, 37, 1991: 383–389.
- BLAHOVEC, J. – HOUŠKA, M. – PATOČKA, K. – JESCHKE, J. – PAPERŠTEIN, F. – MOZÍK, M.: Určování mechanických vlastností plodů třešně a višně. *Zahradnictví*, 18, 1991a: 19–28.
- BLAHOVEC, J. – PATOČKA, K. – LEJČKOVÁ, K. – PAPERŠTEIN, F.: Chování plodů třešně a višně při rázu. *Zeměd. Techn.*, 37, 1991b: 481–489.
- JOHNSON, K. L.: *Contact Mechanics*. Cambridge University Press 1985.
- PATTEN, K. D. – PETERSON, M. E.: Fruit temperature effects of mechanical damage of sweet cherries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 110, 1985a: 215–219.
- PATTEN, K. D. – PETERSON, M. E.: Fruit moisture effects on the texture and mechanical properties of sweet cherries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 110, 1985b: 537–541.

Mechanické vlastnosti třešňí a višňí určené stlačováním mezi dvěma deskami

Plody 24 odrůd třešňí a višňí byly podrobeny zkoumání mechanických vlastností při stlačování v průběhu dvou let (1989 a 1990) s cílem posoudit vhodnost odrůd k mechanizované sklizni. Zkoumány byly čerstvé plody optimální zralosti. Byly určovány parametry: tuhost v počáteční části zatěžovací křivky, síla a deformace v inflexním bodě, deformace při prasknutí slupky (obr. 1).

Základní charakteristiky plodů jsou uvedeny v tab. I, sledované mechanické vlastnosti v tab. II. Současně byl sledován proces porušení plodů a lokalizováno místo praskliny (špička, u stopky, na boku). Výsledky hodnocení převažujícího typu praskání jsou uvedeny v tab. III. Stlačovací křivka byla do inflexního bodu aproximována mocninným vztahem [1], jehož exponent k vypovídá o vlastnostech plodů (pružné kulové těleso $k = 3/2$, tenká membrána naplněná kapalinou $k = 4,2$). Parametry mocninného vztahu pro jednotlivé odrůdy jsou uvedeny v tab. IV.

Získaná data o charakteru převažujícího způsobu praskání plodů jsou zobrazena v trojúhelníkovém diagramu (obr. 2). V témže diagramu jsou připsány k bodům odpovídající hodnoty exponentu k . Pevné pružné plody mající $k = 3/2$ praskají převážně na boku nebo špičce. Měkké poddajné plody mající k větší než 2 praskají převážně na boku. Malé měkké plody mají sklon zatěžovací křivky v jejím počátku okolo 10 N a parametr k okolo 2,5. Nejtvrďší a největší plody mají počáteční tuhost 40–50 N a parametr k asi 3/2. Stlačené plody praskají při deformaci větší než 35 % počátečního rozměru. Vyšší hodnoty jsou vykazovány u měkčích plodů.

třešně; mechanické vlastnosti; stlačovací test; praskání slupky; stlačovací křivka

Contact address:

Ing. Milan Hoška, CSc., Výzkumný ústav potravinářský Praha,
102 31 Praha 10, Radiová 7, Česká republika, tel.: 02/702 331, fax: 02/701 983

OBSAH NĚKTERÝCH VITAMINŮ V PŠENICI A JEČMENI PĚSTOVANÝCH EKOLOGICKÝM ZPŮSOBEM*

Content of some Vitamins in Wheat and Barley from Organic Farming

Jan VELÍŠEK, Jiří DAVÍDEK, Marie HOLASOVÁ¹, Jana MŇUKOVÁ², Jiří PETR³

Institut of Chemical Technology – Department of Food Analysis; ¹Food Research Institute Prague, ²National Institute of Health, ³ Czech Agricultural University, Prague, Czech Republic

Abstract: The content of some vitamins in wheat and barley from organic farming according to the conditions of IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movements) was determined and compared with those produced traditionally. The achieved results proved that the content of vitamins could be a good indicator of quality changes of grains from organic farming. Especially, the content of water soluble vitamins, thiamine and riboflavine, follows the growing conditions of grains. In almost all cases the concentration of thiamine and riboflavine in wheat and barley was lower in organic farming samples. Fat soluble vitamins, tocopherols, tocotrienols and carotenoids, were not influenced by farming conditions. The differences between water and fat soluble vitamins could be explained by the fact, that water soluble vitamins occur in higher concentrations in the surface layers of the seed and in endosperm, the fat soluble vitamins in the germ. If we admit that the conditions of organic farming can in some cases lead to certain disorders in quality of plants nutrition, it is possible to suppose that these negative influences occur sooner in the content of vitamins in the endosperm of grains. The negative influence on compounds present in embryonic part will probably manifest after a longer time of nutrition disorders. The achieved results have to be considered as preliminary ones, due to relatively small number of samples analysed, obtained from one year of experiments, achieved in one locality during the conversion period of organic farming. The validity of these findings would be necessarily proved in further studies (in longer period of experiments, in different localities, under different climatic and soil conditions, etc.). Our results proved the right research orientation in this field. The use of multivariate statistical methods proved differences in vitamins content in grain cultured by organic farming and traditionally.

organic farming; grain quality; wheat; barley; thiamine; riboflavine; carotenoids; tocopherols; tocotrienols; multivariate statistical methods; PCA; PLS

* Práce byla financována z grantu Fondu rozvoje vysokých škol č. 0037/94.

Abstrakt: Byl sledován obsah některých vitaminů v pšenici ozimé a ječmeni jarním pěstovaných podle zásad ekologického zemědělství a tento obsah byl porovnán s obsahem v obilovinách pěstovaných tradičním způsobem. Z vitaminů byly sledovány thiamin, riboflavin, tokoferoly, tokotrienoly a karotenoidy. Téměř ve všech sledovaných případech byly nalezené koncentrace thiaminu a riboflavinu v pšenicích a ječmenech pěstovaných ekologickým způsobem nižší. Sledované v tuku rozpustné vitaminy, tj. tokoferoly, tokotrienoly a karotenoidy, nebyly pěstebním způsobem podstatně ovlivňovány.

ekologické zemědělství; kvalita obilovin; pšenice; ječmen; thiamin; riboflavin; karotenoidy; tokoferoly; tokotrienoly; vícerozměrné statistické metody; PCA; PLS

Rozvoj zemědělské produkce se v minulých letech soustřeďoval především na dosažení maximálních výnosů plodin a přírůstků a užitkovosti hospodářských zvířat. Těchto cílů se dosahovalo především zvyšujícími se dávkami syntetických hnojiv a prostředků k ochraně rostlin a zvířat. V současné době se intenzivně projevují trendy mající za cíl zlepšení dřívějšího nežádoucího stavu zaváděním tzv. ekologického zemědělství. Vznikly a rozvíjejí činnost některé zemědělské podniky pracující na přesně definovaných principech tohoto způsobu hospodaření a výroby potravin (Metodické pokyny, 1994). Podle těchto principů je pozornost zaměřena pouze na dodržování technologických postupů odpovídajících ekologickému hospodaření a výrobě potravin. Naše dosavadní znalosti o ovlivňování kvality takto vyráběných zemědělských produktů a potravin jak po stránce výživové, sensorické a hygienické, tak i technologické jsou doposud velmi skromné a nedostatečné.

Způsoby hospodaření, především hnojení, ovlivňují kvalitu pěstovaných obilovin (Prugar, 1994a). Bylo prokázáno, že snížením intenzity dusíkatého hnojení na polovinu se sníží obsah bílkovin o 1 % (Zimmermann, 1991). Technologická hodnota zrna a mouk z ekologické produkce se v řadě znaků odlišuje od obilí pěstovaného konvenčními technologiemi. U vnějších znaků zrna a jeho objemové hmotnosti nejsou průkazné rozdíly. Mlýnská hodnota bývá u pšenice lepší při konvenčním způsobu pěstování. Pekařské vlastnosti mouk vyrobených z ekologicky pěstované pšenice jsou významně ovlivněny sníženou hladinou bílkovin, resp. lepku, což se projevuje jak v sedimentačním testu, tak i na objemu pečiva – výsledky s ekologicky pěstovanými pšenicemi jsou horší (Prugar, 1994b). Neznamená to ovšem, že z ekologicky pěstovaného obilí nelze za použití obvyklých pečicích přísad vyrobit kvalitní pečivo (Günter, 1993; Zwatz, 1993; Schmieder,

Zabell 1991). Mimo to, určitá část ekologicky vypěstované pšenice je spotřebována přímo a značná část se zpracovává na celozrné šrotky a tmavé mouky. U sladovnického ječmene je snížení obsahu bílkovin jako důsledek snížení dusíkatého hnojení naopak žádoucí.

V naší práci jsme se zabývali některými kvalitativními ukazateli obilovin, konkrétně pšenice a ječmene. Obiloviny hrají v lidské výživě důležitou úlohu a tvoří značnou část plodin zastoupených v osevních plánech ekologického zemědělství – pšenice jako důležitý reprezentant chlebového obilí a ječmen především s ohledem na uplatnění při výrobě sladu.

Z jakostních ukazatelů byly ke sledování vybrány některé vitaminy skupiny B – konkrétně thiamin a riboflavin jako zástupci vitaminů rozpustných ve vodě a vitamin E a karotenoidy ze skupiny vitaminů rozpustných v tuku.

Vitaminy pro tyto studie byly vybrány s ohledem na svůj nízký obsah a esenciálnost. Lze tedy předpokládat, že by s největší pravděpodobností mohly patřit mezi látky, které mohou být pěstebními podmínkami nejvíce ovlivněny. Thiamin a riboflavin byly vybrány proto, že obiloviny patří k jejich nejdůležitějším zdrojům v naší výživě. Tokoferoly a karotenoidy byly zvoleny s ohledem na vysoké zastoupení v částech zrna bohatých na lipidy (v klíčku) a s ohledem na vysokou citlivost k faktorům vnějšího prostředí, především ke kyslíku a světlu.

O obsahu vitaminů v ekologicky pěstovaných obilovinách nejsou v literatuře dostupné informace. Jejich množství v obilovinách pěstovaných konvenčními způsoby se pohybují v širokých rozmezech, podle odrůdy, hnojení a klimatických podmínek. Obvyklé hladiny thiaminu a riboflavinu (v mg/kg) jsou v konvenčně pěstované pšenici ozimé: thiamin 1,8–3,9 a riboflavin 1,1 až 1,6, v ječmeni jarním 1,2–4,4 a 1,1–1,7 (Prugar, Veselá, 1969; Bártlová et al., 1970; Prugar, Nováková, 1972). Obsah celkových tokoferolů a tokotrienolů v ječmeni různých genotypů a lokalit se uvádí v rozmezí 42–80 mg/kg (Peterson, Qureshi, 1993) v pšenici kolem 40 mg/kg (Piironen et al., 1986). V karotenoidech pšenice a ječmene je zastoupen převážně lutein v koncentracích 2,2–7,3 mg/kg (Heinonen et al., 1989).

MATERIÁL A METODY

Materiál

Vzorky pšenice ozimé a ječmene jarního pocházely z odrůdových pokusů vedených pro Listinu doporučených odrůd pro ÚKZÚZ v ekologickém sys-

tému pěstování podle zásad IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movements) (Metodické pokyny, 1994).

Pokusy byly založeny na pokusné stanici katedry rostlinné výroby AF VŠZ v Praze v Uhřetěvsi na pozemku, který je druhým rokem v konverzi na ekologické zemědělství. Stanice se nachází v řepařském výrobním typu, subtypu pšeničném, v nadmořské výšce 295 m, půdní typ: půda jílovito-hlinitá, hloubka ornice 32 cm, hladina podzemní vody v hloubce 100 cm. Roční srážkový normál 575 mm, roční teplotní normál 8,3 °C. Pro pšenici ozimou byly předplodinou brambory, pro ječmen jarní pšenice ozimá.

Pokus byl uspořádán metodou „split plot“ ve čtyřech opakováních, sklizňová velikost parcel byla 10 m² a šířka řádků 10,8 cm. Podle zásoby živin šlo o půdy se střední až vysokou zásobou živin a středním až vysokým obsahem a kvalitou humusu (Velíšek, Petr, 1994). Hnojení ani ochranné prostředky nebyly použity. Plevely byly regulovány jen mechanicky (dvojitým vláčením plecími branami).

Vzorky pšenice ozimé a ječmene jarního pěstované tradičním způsobem byly získány ze šlechtitelské stanice Stupice. Půdní a povětrnostní podmínky jsou podobné, také druh a typ půdy je stejný jako u obilovin pěstovaných podle zásad ekologického zemědělství v Uhřetěvsi. Zásoba živin je střední až vysoká. Pro pšenici ozimou bylo uplatněno základní hnojení před setím na podzim 84 kg N, 38 kg K₂O, 38 kg P₂O₅ a 17 kg MgO. K regeneračnímu hnojení dusíkem na jaře bylo použito 10 kg N. Produkční hnojení na základě rozborů rostlin (ARR) nebylo třeba. Proti plevelům byl použit přípravek Glean v dávce 25 g na 1 ha preemergentně. Dále byl použit regulátor Retacel Extra v dávce 1,5 l na zahuštění porostu společně s fungicidem Tango v dávce 0,6 l na 1 ha v 300 l vody a přípravek Karate v dávce 0,3 l na 1 ha proti kohoutkům a mšicím.

Pro ječmen jarní bylo použito kombinované hnojivo NPK (41 kg č. ž. N, K₂O a P₂O₅).

K pokusům byly použity odrůdy pšenice ozimé Hana, Samanta, Torysa, Asta, Siria, Trane a Regina a ječmene jarního: Rubín, Orbit, Jubilat, Akcent a Forum.

Metody

K stanovení vitaminů byly použity tyto metody: thiochromová metoda pro stanovení thiaminu (ČSN 56 0052), lumiflavinová metoda pro stanovení riboflavinu (ČSN 56 0054), spektrofotometrická metoda v UV části spektra pro stanovení karotenoidů. Výpočet byl proveden na základě koeficientu absorbance pro β-karoten $A_{1\text{cm}}^{1\%} = 2592$ (Bauerfeind, 1989). Pro stanovení

tokoferolů a tokotrienolů byla použita HPLC metoda (Piironen et al., 1984). Ekvivalent α -tokoferolu byl vypočten na základě faktorů biologické aktivity jednotlivých tokoferolů a tokotrienolů.

Analýzy thiaminu a riboflavinu byly prováděny ve dvou paralelních stanovenech, analýzy karotenoidů a tokoferolů s ohledem na časovou náročnost, pouze jednou.

K statistickému hodnocení výsledků byl použit program The Unscramber, V 5.5 (Camo a.s., Trondheim, Norsko).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Obsah thiaminu a riboflavinu ve vzorcích pšenice ozimé a ječmene jarního pěstovaných ekologickým i tradičním způsobem je uveden v tab. I. Obsah tokoferolů a tokotrienolů a karotenoidů ve vzorcích pšenice ozimé a ječmene jarního pěstovaných ekologickým i tradičním způsobem je uveden v tab. II.

Obsah thiaminu v obou sledovaných obilovinách je na rozdíl od obsahu riboflavinu značně ovlivněn odrůdou. Z tab. I rovněž vyplývá, že téměř ve všech případech jsou obsahy thiaminu i riboflavinu u odrůd pěstovaných ekologicky nižší. Proto bylo *t*-testem zjišťováno, zda existují statisticky významné rozdíly mezi výsledky analýz (tab. III a IV).

I. Průměrný obsah thiaminu a riboflavinu v mg/kg v pšenici ozimé a ječmeni jarním – Average content of thiamine and riboflavin mg/kg in wheat and barley

Pšenice ⁴					Ječmen ⁵				
Odrůda ¹	thiamin ²		riboflavin ³		odrůda ¹	thiamin ²		riboflavin ³	
	E	T	E	T		E	T	E	T
Hana	2,73	3,30	1,00	1,06	Akcent	2,92	3,22	1,20	1,20
Torysa	3,15	3,66	1,00	1,03	Rubín	2,42	2,68	1,15	1,16
Regina	2,00	2,30	1,00	1,00	Orbit	2,90	2,70	1,17	1,17
Siria	3,68	4,07	1,02	1,09	Jubilant	2,26	2,64	1,16	1,18
Asta	3,22	2,94	1,08	1,06	Forum	3,15	3,48	1,00	1,03
Trane	2,86	3,31	1,01	1,08					
Samanta	1,96	2,56	1,02	1,08					

E = pěstováno ekologicky – grown according rules of organic farming, T = pěstováno tradičně – grown traditionally

¹variety; ²thiamine; ³riboflavine; ⁴wheat; ⁵barley

II. Obsah tokoferolů, tokotrienolů a karotenoidů v mg/kg v pšenici ozimé a ječmeni jarním – Content of tocopherols, tocotrienols and carotenoids in mg/kg in wheat and barley

Odrůda ¹	α-TO		α-TT		β-TO		β-TT		γ-TO		γ-TT		Celkem		α-TE		CAR	
	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T
Pšenice ²																		
Hana	10,5	9,7	3,6	4,2	5,1	4,7	26,2	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0	45,4	43,6	14,9	14,1	2,2	3,5
Torysa	9,6	9,2	4,9	4,6	4,3	4,2	39,2	37,9	0,0	0,0	0,0	0,0	58,0	55,9	14,8	14,2	3,0	3,3
Regina	10,8	11,6	3,8	3,9	6,4	7,1	21,5	20,9	0,0	0,0	0,0	0,0	42,5	43,5	15,6	16,7	2,7	2,9
Siria	9,4	11,4	3,6	4,0	6,1	6,5	26,4	24,7	0,0	0,0	0,0	0,0	45,5	46,6	14,2	16,4	4,7	4,4
Asta	11,4	9,6	4,7	4,8	4,2	3,9	26,7	26,2	0,0	0,0	0,0	0,0	47,0	44,5	15,8	13,9	4,4	3,7
Trane	13,4	14,9	3,2	3,3	6,2	7,2	27,1	28,2	0,0	0,0	0,0	0,0	49,9	53,6	18,2	20,1	5,7	5,0
Samanta	9,1	10,1	3,7	3,8	4,0	4,2	22,6	22,8	0,0	0,0	0,0	0,0	39,4	40,9	12,9	14,1	2,0	2,1
Ječmen ³																		
Akcent	10,2	11,6	36,0	37,3	0,7	0,6	3,7	3,9	4,2	4,5	5,4	5,8	60,2	63,7	21,9	23,7	5,0	5,1
Rubín	11,7	10,4	42,5	37,1	0,6	0,4	4,2	4,0	3,1	3,0	5,6	5,7	67,7	60,6	25,3	21,8	6,7	6,2
Orbit	12,1	13,4	50,8	51,0	0,6	0,7	6,7	8,3	4,5	5,1	7,7	9,6	82,4	88,1	28,4	30,0	5,6	4,7
Jubilant	10,6	9,9	41,0	37,1	0,5	0,8	6,4	5,7	3,2	3,0	4,9	5,1	66,6	61,6	23,8	22,0	5,0	5,0
Forum	11,8	12,4	43,5	44,2	1,1	1,2	8,4	8,7	6,3	6,3	6,3	6,9	77,4	79,7	26,4	27,2	5,8	4,6

TO = tokoferol – tocopherol, TT = tokotrienol – tocotrienol, α-TE = ekvivalent α-tokoferolu (vypočítaný na základě faktorů biologické aktivity jednotlivých tokoferolů a tokotrienolů) – equivalent of α-tocopherol (calculated on bases of activity of individual tocopherols and tocotrienols, CAR = karotenoidy – carotenoids, E = pěstováno ekologicky – grown according rules of organic farming, T = pěstováno tradičně – grown traditionally

¹variety, ²wheat, ³barley

Jak vyplývá z tab. III, jediný statisticky významný rozdíl pro celou skupinu pšeníc a ječmenů pěstovaných ekologickým a tradičním způsobem byl zjištěn u pšeníc u riboflavinu (rozdíl na hladině významnosti 0,035, tj. s pravděpodobností 96,5 %). Dále bylo zjišťováno, zda existují statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými odrůdami pšeníc a ječmenů pěstovaných ekologickým a tradičním způsobem (tab. IV). U thiaminu byly zjištěny statisticky významné rozdíly u pšenice odrůd Hana, Regina, Trane a Samanta.

III. Porovnání průměrných obsahů thiaminu a riboflavinu v pšenicích a ječmenech pěstovaných ekologicky a tradičně – Comparison of average content of thiamine and riboflavine grown according roles of organic farming and traditionally

Proměná ¹	Rozdíl na hladině významnosti ²		Proměná	Rozdíl na hladině významnosti	
	pšenice ³	ječmen ⁴		pšenice	ječmen
THI	0,299	0,397	BTT	0,703	0,862
RIB	0,035	0,802	GTO		0,892
CAR	0,965	0,272	GTT		0,513
ATO	0,731	0,734	TOT	0,968	0,986
ATT	0,615	0,708	ATE	0,686	0,913
BTO	0,758	0,819			

THI = thiamin – thiamine, RIB = riboflavin – riboflavine, CAR = carotenoidy – carotenoids, ATO = α -tokoferol – α -tocopherol, ATT = α -tokotrienol – α -tocotrienol, BTO = β -tokoferol – β -tocopherol, BTT = β -tokotrienol – β -tocotrienol, GTO = γ -tokoferol – γ -tocopherol, GTT = γ -tokotrienol – γ -tocotrienol, TOT = celkový obsah tokoferolů a tokotrienolů – total content of tocopherols and tocotrienols, ATE = ekvivalent α -tokoferolu (vypočítaný na základě faktorů biologické aktivity jednotlivých tokoferolů a tokotrienolů – equivalent of α -tocopherol (calculated on bases of activity of individual tocopherols and tocotrienols))

¹variable; ²significance level; ³wheat; ⁴barley

Dále byly zjištěny rozdíly u odrůd Siria na hladině významnosti 0,091, tj. s pravděpodobností 90,9 %, u odrůdy Torisa na hladině významnosti 0,104, tj. s pravděpodobností 89,6 % a odrůdy Asta na hladině významnosti 0,131, tj. s pravděpodobností 86,9 %. Ve všech případech se jedná o nižší obsahy thiaminu u ekologicky pěstovaných odrůd, pouze u odrůdy Asta je tomu naopak. U ječmenů byly zjištěny statisticky významné rozdíly v obsahu thiaminu u odrůd Jubilant, Forum a Orbit. U odrůdy Jubilant a Forum byly prokázány statisticky významně nižší hodnoty thiaminu u vzorků pěstovaných ekologicky, u odrůdy Orbit hodnoty vyšší. U odrůdy Akcent a Rubín

IV. Porovnání průměrných obsahů thiaminu a riboflavinu v paralelně analyzovaných odrůdách pšenice a ječmene pěstovaných ekologicky a tradičně – Comparison of average content of thiamine and riboflavine in parallelly analysed varieties of wheat and barley grown according to rules of organic farming and traditionally

Pšenice ¹			Ječmen ²		
Proměnná ³	rozdíl na hladině významnosti ⁴		proměnná	rozdíl na hladině významnosti	
	thiamin ⁵	riboflavin ⁶		thiamin	riboflavin
Hana	0,046	0,198	Akcent	0,168	
Torysa	0,104	0,095	Rubín	0,093	0,890
Regina	0,043	0,890	Orbit	0,012	
Siria	0,091	0,465	Jubilant	0,007	0,423
Asta	0,131	0,423	Forum	0,055	0,272
Trane	0,025,				
Samanta	0,006	0,115			

¹wheat; ²barley; ³variable; ⁴significance level; ⁵thiamine; ⁶riboflavine

byly zjištěny nižší obsahy u vzorků pěstovaných ekologickým způsobem. U odrůdy Akcent existovaly rozdíly na hladině významnosti 0,168, tj. s pravděpodobností 83,2 %, u odrůdy Rubín na hladině významnosti 0,093, tj. s pravděpodobností 92,7 %.

U riboflavinu nebyly zjištěny žádné statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými odrůdami pšenic a ječmenů pěstovaných ekologicky a tradičně.

Při analýzách tokoferolů a tokotrienolů nebyly shledány rozdíly ani v celkovém obsahu, ani v obsahu jednotlivých vitaminů. Pro lepší přehlednost získaných výsledků a zviditelnění vzájemných vztahů mezi analyzovanými vzorky a proměnnými (obsahem jednotlivých vitaminů) byl získaný soubor výsledků analyzován několika vícerozměrnými statistickými metodami.

Výsledky získané analýzou hlavních komponent (PCA) jsou uvedeny v tab. V. Jak je zřejmé, devět původních proměnných se podařilo nahradit dvěma hlavními komponentami, které vysvětlovaly 78 % rozptylu vstupních dat. Dané řešení však poměrně málo popisuje proměnné THI, RIB a ATO (nízké hodnoty komunalit). Z obr. 1, kde jsou v osách první a druhé hlavní komponenty vyneseny saturace jednotlivých vitaminů, jsou zřejmé vztahy a souvislosti mezi jednotlivými vitaminy. Pozitivně například koreluje obsah ATT, GTT a RIB a také obsah BTO s BTT. Tyto dvě skupiny látek vzájemně korelují negativně. Znamená to, že když bude kupříkladu v analy-

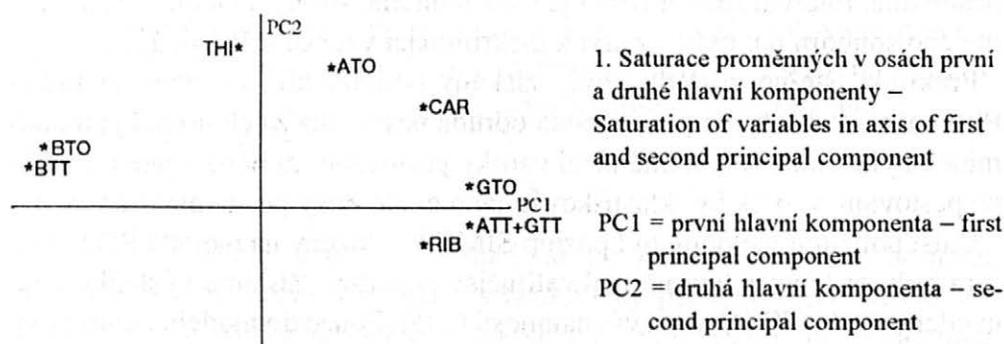
V. Výsledky analýzy hlavních komponent - Results of PCA analysis

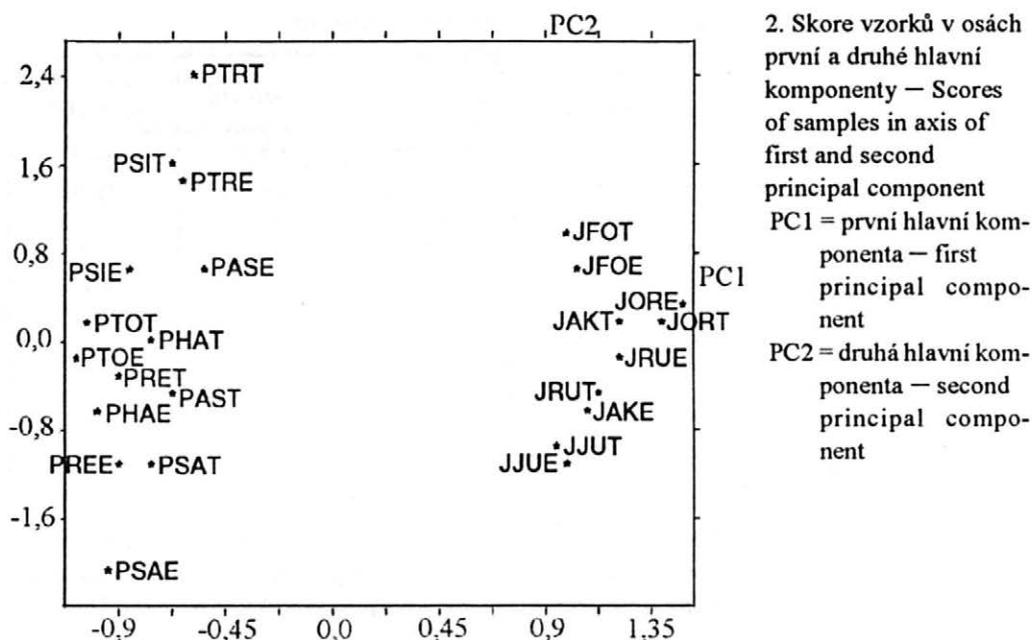
Proměnná ¹	Komunalita ²	Hlavní komponenta ³	Vlastní číslo ⁴	% rozptylu ⁵	Celkové % rozptylu ⁶
THI	0,55597	1	5,70986	63,4	36,4
RIB	0,59369	2	1,34715	15,0	78,4
CAR	0,76067				
ATO	0,57511				
ATT	0,96829				
BTO	0,89838				
BTT	0,89484				
GTO	0,86420				
GTT	0,94588				

THI = thiamin – thiamine, RIB = riboflavin – riboflavine, CAR = karotenoidy – carotenoids, ATO = α -tokoferol – α -tocopherol, ATT = α -tokotrienol – α -tocotrienol, BTO = β -tokoferol – β -tocopherol, BTT = β -tokotrienol – β -tocotrienol, GTO = γ -tokoferol – γ -tocopherol, GTT = γ -tokotrienol – γ -tocotrienol

¹variable; ²communality; ³principal component; ⁴eigenvalue; ⁵p. c. of variance; ⁶cummulative p. c.

zvaném vzorku pšenice nebo ječmene méně riboflavinu než je jeho průměrný obsah, bude zde více BTO a BTT, atd. Vztahy mezi vzorky jsou patrné z obr. 2. V kladném směru první hlavní komponenty, který je určován hlavně obsahem RIB, ATT, GTO a GTT, jsou situovány vzorky ječmene. Ječmen tedy obsahuje více těchto vitaminů než pšenice. V záporném směru první hlavní komponenty (vyšší obsah BTO a BTT) jsou vzorky pšenice. Je vidět, že obsah některých vitaminů by byl dobrým chemotaxonomickým kritériem, ale to nebylo účelem této práce. Vidět je bohužel i to, že ani vzorky pšenice, ani vzorky ječmene nemají výraznou tendenci se odlišit podle podmínek pěstování na shluk vzorků pěstovaných za ekologických podmínek a shluk vzor-





ků pěstovaných tradičním způsobem. Rozdíly, pokud existují, budou příliš malé a metodou PCA obtížně rozeznatelné.

Pokusili jsme se proto použít další vícerozměrné statistické metody, a to takové, které jsou vhodné k rozlišení vzorků na skupiny podle jejich vzájemných souvislostí vhodné k diskriminaci vzorků pěstovaných za ekologických a tradičních podmínek.

Výsledky hodnocení pšenic metodou hlavních nejmenších čtverců (PLS) jsou uvedeny v tab. VI. Skupině ekologicky pěstovaných odrůd pšenice byla arbitrážně přiřazena hodnota ET 1, skupině tradičně pěstovaných pšenic hodnota ET 2. Byla provedena predikce hodnoty ET a jak je vidět, dvě odrůdy ekologicky pěstované byly chybně zařazeny mezi tradičně pěstované, a naopak dvě odrůdy tradičně pěstované byly klasifikovány jako ekologicky pěstované. Interval spolehlivosti je však poměrně široký a metoda by u takto malého souboru dat byla v praxi k diskriminaci vzorků těžko použitelná.

Prakticky stejné výsledky byly získány hodnocením ječmenů metodou PLS s tím rozdílem, že pouze jedna odrůda pěstovaná za ekologických podmínek byla zařazena chybně mezi vzorky pěstované tradičně a jeden tradičně pěstovaný vzorek byl klasifikován jako ekologicky pěstovaný (tab. VI).

Další použitou metodou byl postup SIMCA založený na metodě PCA, kterým byly získány relativně nejkvalitnější výsledky. Získané výsledky jsou uvedeny v tab. VII (hladina významnosti 0,05). Pouze do modelu ekologicky

VI. Klasifikace pšeníc a ječmenů metodou PLS – Classification of wheat and barley by PLS method

Pšenice ¹			Ječmen ²		
Odrůda ³	ET	interval spolehlivosti ⁴	odrůda	ET	interval spolehlivosti
PHAE	1,4885	0,3973	JAKE	1,6625	0,6006
PTOE	1,1040	0,7174	JRUE	1,0090	0,4773
PREE	1,4689	0,6276	JORE	1,4549	0,4468
PSIE	1,6201	0,6092	JJUE	1,2751	0,4644
PASE	1,5871	0,5145	JFOE	1,4273	0,7966
PTRE	1,2089	0,9612	JAKT	1,7833	0,5781
PSAE	1,3190	0,7452	JRUT	1,2313	0,4852
PHAT	1,7205	0,4078	JORT	1,7312	0,7209
PTOT	1,3089	0,7373	JJUT	1,5215	0,5410
PRET	1,5651	0,6627	JFOT	1,8906	0,6457
PSIT	1,9312	0,6150			
PAST	1,5728	0,6249			
PTRT	1,4714	0,9881			
PSAT	1,7130	0,6370			

ET = arbitrážně určená hodnota – arbitrarily determined value (ET = 1: pěstované ekologicky – grown according to rules of organic farming, ET = 2: pěstované tradičně – wheat grown traditionally). Ve sloupci „Odrůda“ – in column „Variety“ P = pšenice – wheat, J = ječmen – barley, E = ekologicky pěstovaná – grown according to rules of organic farming, T = tradičně pěstovaná – grown traditionally, HA = Hana, TO = Torysa, = Regina, SI = Siria, AS = Asta, TR = Trane, SA = Samanta, AK = Akcent, RU = Rubín, OR = Orbit, JU = Jubilant, FO = Forum

¹wheat; ²barley; ³variety; ⁴confidence limit

pěstovaných pšeníc byly chybně zařazeny tři tradičně pěstované pšenice (tab. VII). U ječmenů (tab. VII) byl chybně zařazen do nesprávné skupiny jeden vzorek pěstovaný ekologicky a jeden vzorek pěstovaný tradičně.

Závěry

Dosažené výsledky potvrzují předpoklad, že obsah vitaminů by se mohl stát dobrým ukazatelem změn jakosti ekologicky pěstovaných obilovin. Na základě provedených pokusů lze předpokládat, že především obsah vitaminů

VII. Klasifikace pšeníc a ječmenů metodou SIMCA – Classification of wheat and barley by SIMCA method

Pšenice ¹			Ječmen ²		
Odrůda ³	model 1	model 2	odrůda	model 1	model 2
PHAE	*SIE-P	*SIT-P	JAKE	*SIE-J	*SIT-J
PTOE	SIT-P	*SIE-P	JRUE	*SIE-J	*SIT-J
PREE	*SIT-P	*SIE-P	JORE	*SIT-J	*SIE-J
PSIE	*SIE-P	*SIT-P	JJUE	*SIE-J	*SIT-J
PASE	*SIT-P	*SIE-P	JFOE	*SIE-J	*SIT-J
PTRE	*SIE-P	*SIT-P	JAKT	*SIT-J	*SIE-J
PSAE	*SIE-P	*SIT-P	JRUT	*SIT-J	*SIE-J
PHAT	*SIT-P	*SIE-P	JORT	*SIT-J	*SIE-J
PTOT	*SIT-P	*SIE-P	JJUT	*SIE-J	*SIT-J
PRET	*SIT-P	*SIE-P	JFOT	*SIT-J	*SIE-J
PSIT	*SIT-P	*SIE-P			
PAST	*SIT-P	*SIE-P			
PTRT	*SIT-P	*SIE-P			
PSAT	*SIT-P	*SIE-P			

Ve sloupci „Odrůda“ – in column “Variety“ P = pšenice – wheat, J = ječmen – barley, E = ekologicky pěstovaná – grown according to rules of organic farming, T = tradičně pěstovaná – grown traditionally, HA = Hana, TO = TORYSA, RE = Regina, SI = Siria, AS = Asta, TR = Trane, SA = Samanta, Model SIE-P = ekologicky pěstovaná pšenice – wheat grown according to rules of organic farming, Model SIT-P = tradičně pěstovaná pšenice – wheat grown traditionally, AK = Akcent, RU = Rubín, OR = Orbit, JU = Jubilant, FO = Forum, Model SIE-J = ekologicky pěstovaný ječmen – barley grown according rules of organic farming, Model SIT-J = tradičně pěstovaný ječmen – wheat grown traditionally, * = příslušnost k danému modelu na hladině významnosti 0,05 – belongs to the model at significance level 0.5

¹wheat; ²barley; ³variety

rozpuštěných ve vodě (thiaminu a riboflavinu) citlivě reaguje na změny pěstebního režimu.

Téměř ve všech sledovaných případech byly nalezené koncentrace thiaminu a riboflavinu v pšenicích a ječmenech pěstovaných ekologickým způsobem nižší.

Sledované vitaminy rozpustné v tuku nejsou podstatným způsobem ovlivněny pěstebním způsobem.

Pravděpodobné příčiny rozdílného chování vitaminů rozpustných ve vodě a v tucích by bylo možné vysvětlit tím, že ve vodě rozpustné vitaminy (thiamin a riboflavin) jsou v obilce uloženy v povrchových vrstvách a endospermu, tedy v rezervní části zrna. Tokoferoly se pak nacházejí především v klíčku, tedy v zárodečné části obilky. Pokud připustíme, že za ekologických podmínek pěstování může docházet k určitým disproporcím ve výživě, lze předpokládat, že se tyto negativní jevy nejprve projeví v obsahu látek v rezervní části zrna a teprve poté, při dlouhodobém strádání, by se mohly projevit v zárodečných částech obilky.

Dosažené výsledky a z nich vyvozované závěry je však nutné chápat jen jako orientační a předběžné, neboť vycházejí z malého počtu analýz, z jednoho pěstebního roku, z jedné lokality a z přechodného období konverze. Jejich průkaznost bude nutné potvrdit podrobnějšími studii (víceleté pokusy, různé lokality, různé klimatické a půdní podmínky, pozemky dlouhodoběji zařazené v ekologickém zemědělství apod.). V každém případě naše zjištění ukazují na správnou orientaci výzkumu v této oblasti.

Hodnocení výsledků vícerozměrnými statistickými metodami jako celek ukázalo, že jisté rozdíly v obsahu vitaminů pěstovaných ekologicky a tradičně existují. Výhledově by pak bylo možné tyto metody použít, jmenovitě metodu PCA, PLS, SIMCA, popř. diskriminační analýzu a další, pro klasifikaci vzorků na příslušné skupiny na základě znalosti obsahu některých vitaminů. Předpokladem je však více dat získaných analýzou většího množství vzorků.

L i t e r a t u r a

- BARTLOVÁ, D.– TICHÁ, J.– SPORKOVÁ, A.: Ztráty důležitých nutričních látek během zpracování obilovin a možnosti jejich restituce II. Nutričně důležité látky pšenice a jejich ztráty během sušení a skladování. Mlýnsko-pekárenský průmysl, 16, 1970: 262–264.
- GÜNTHER, S.: Öko-Kleingebäck Akzeptables Volumen erreichbar. Brot und Backwaren, 41, 1993: 33–36.
- HEINONEN, M.– OLLILAINEN, V.– LINKOLA, E.– VARO, P.– KOIVISTOINEN, P.: Carotenoids and retinoids in finnish foods: Cereals and bakery products. Cereal Chem., 66, 1989: 270–273.
- PETERSON, D. H.– QURESHI, A. A.: Genotype and environment effects on tocopherols of barley and oats. Cereal Chem., 70, 1993: 157–162.
- PIIRONEN, V.– VARO, P.– SYVOJA, E. L.– KOIVISTOINEN, P.: High-performance liquid chromatographic determination of tocopherols and tocotrienols and its

application to diets and plasma of Finnish man. Intern. J. Vit. Nutr. Res., 53, 1984: 35–40.

PIIRONEN, V.– SYVOJA, E. L.– VARO, F.– SALMINEN, K.– KOIVISTOINEN, P.: Tocopherols and tocotrienols in cereal products from Finland. Cereal. Chem., 63, 1986: 78–81.

PRUGAR, J.: Biopotraviny – nová kvalita. In: MOUDRÝ, J. a kol.: České biopotraviny. Nadace pro organické zemědělství FOA. Ministerstvo zemědělství ČR, Praha 1994a: 82–83.

PRUGAR, J.: Jakost rostlinných produktů konvenčního a ekologického zemědělství. Praha, ÚZPI 1994b: 17–21.

PRUGAR, J. – NOVÁKOVÁ, J.: Riboflavingehalt der in CSSR angebauten Getreide- und Hülsenfruchtarten. Mühle, 109, 1972: 437–438.

PRUGAR, J.– VESELÁ, J.: Thiamingehalt der in CSSR angebauten Getreide- und Hülsenfruchtarten. Getreide und Mehl, 19, 1969: 94–95.

SCHMIEDER, W. – ZABEL, S.: Einfluss einer reduzierten Stickstoffdüngung auf die Qualität und den Ertrag von Backweizen. Mühle und Mischfuttertechnik, 128, 1991: 553–556.

VELÍŠEK, J. – PETR, J.: Jakost produktů ekologického zemědělství. Závěrečná zpráva grantu projektu Fondu rozvoje vysokých škol č. 0037. Praha, VŠCHT 1994: 2–27.

ZIMMERMANN, G.: Ertrag- und Qualitätseigenschaften von Weizen bei reduziertem Düngungs- und Pflanzenschutz aufwands. Getreide Mehl und Brot, 45, 1991: 323–327.

ZWATZ, B.: Getreidequalität: Dem Zufall überlassen oder integriert produzieren? Allgemeiner Mühlen-Markt, 94, 1993: 115–117.

Metodické pokyny pro ekologické zemědělství České republiky. Praha 1994.

ČSN 560052 : Stanovení thiaminu (vitaminu B₁). Praha 1969.

ČSN 560054 : Stanovení riboflavinu (vitaminu B₂). Praha 1971.

Došlo 5. 4. 1995

Kontaktní adresa:

Prof. Ing. Jan Velíšek, DrSc., Vysoká škola chemicko-technologická,
Ústav chemie a analýzy potravin, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika,
tel.: 02/311 52 17, fax: 02/311 99 90, e-mail: fpbt/office@vscht.cz

IMUNOAFINITNÍ EXTRAKCE AFLATOXINŮ A JEJICH STANOVENÍ METODOU HPLC V SUROVINÁCH, POTRAVINÁCH A KRMIVECH*

Immunoaffinity Extraction of Aflatoxins and their HPLC Determination in Raw Materials, Foods and Feeds

Zdeněk VESELÝ, Ivan BOHAČENKO

Food Research Institute Prague, Prague, Czech Republic

Abstract: The immunoaffinity extraction of aflatoxins and their determination in raw materials, foods and feeds by HPLC with fluorimetric detection are described. The sensitivity of aflatoxin B₁ and B₂ determination was increased by their derivatization to the corresponding hemiacetals B_{2a} and G_{2a} with trifluoroacetic acid. Application of immunoaffinity extraction and extract separation by selective separation columns "Aflaprep" that catch aflatoxins B₁, B₂, G₁ a G₂ by bound monoclonal antibody, were suitable. After elution of ballast substances, aflatoxins are quantitatively released from the column, derivatized and determined directly by HPLC with fluorimetric detection. The method proved to provide results comparable with generally used procedures as far as the accuracy, detection limit and cost is concerned, but with reduced labor and time consumption.

aflatoxins; determination; HPLC; immunoaffinity; extraction; raw materials; foods; feeds

Abstrakt: Je popsán způsob imunoafinitní extrakce aflatoxinů a jejich následné stanovení v surovinách, potravinách a krmivech metodou HPLC s fluorescenční detekcí. Vysoké citlivosti u aflatoxinů B₁ a G₁, které mají v UV světle nízkou fluorescenci, bylo dosaženo jejich derivatizací kyselinou trifluoroctovou na odpovídající hemiacetály B_{2a} a G_{2a}. Úspěšně bylo ověřeno použití imunoafinitní extrakce a čištění vyizolovaného analytu použitím selektivních separačních kolonek „Aflaprep“, zachycujících vázanými monoklonárními antičásticemi aflatoxiny B₁, B₂, G₁ a G₂ ze surového extraktu. Po vymytí balastních látek se aflatoxiny z kolony kvantitativně uvolní a mohou být po derivatizaci přímo stanoveny HPLC/FLD. Bylo prokázáno, že metoda poskytuje co do přesnosti

* Práce byla provedena v rámci úkolu 0117 Minimalizace průniku cizorodých látek do potravních řetězců financovaného MZe ČR.

a meze stanovitelnosti výsledky srovnatelné se standardně používanými metodami při srovnatelných finančních nákladech, ale za značné úspory pracnosti a času.

aflatoxiny; stanovení; HPLC; imunoafinitní extrakce, suroviny; potraviny; krmiva

Aflatoxiny náleží do skupiny mykotoxinů, což jsou sekundární metabolity mikroskopických hub, tzv. plísní. V současné době je známo kolem 300 mykotoxinů (Ruprich, 1992), z nichž potom více než 15 aflatoxinů a jejich metabolitů (Ade nsam et al., 1986). Aflatoxiny jsou známé svými mutagenními, teratogenními a karcinogenními účinky a patří mezi nejnebezpečnější mykotoxiny. Jsou produkovány druhy *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* a *Aspergillus nominus* (Ruprich, 1992). Pro praxi jsou důležité čtyři základní druhy aflatoxinů označené B₁, B₂, G₁, G₂ a metabolity M₁, a M₂ vznikající z aflatoxinů B₁ a B₂ ve zvířecím organismu, odkud jsou částečně vylučovány mlékem. Aflatoxiny skupiny B a G, z nichž pro svou vysokou toxicitu a nejčastější výskyt je nejsledovanější aflatoxin B₁, se mohou vyskytovat v nejrůznějších surovinách, potravinách a krmivech napadených uvedenými plísněmi. K jejich výskytu dochází především u jaderovin a olejnatých semen (podzemnice olejné), kukuřice, koření, kakaových bobů, fíků, krmiv i dalších surovin.

Obsah aflatoxinů v potravinách je u nás limitován hygienickými předpisy Ministerstva zdravotnictví ČR (sv. 61/1986, směrnice 69) a činí pro aflatoxin B₁ všeobecně 5 μg/kg, pro dětskou výživu 1 μg/kg a pro kojeneckou výživu 0,1 μg/kg v přepočtu na obnovené mléko. U ostatních aflatoxinů (B₂, G₁ a G₂), jejichž toxicita je ve srovnání s aflatoxinem B₁ nižší, se obvykle stanovuje součet jejich obsahu, přičemž limitní hodnota je u potravin všeobecně 10 μg/kg, u dětské výživy 2 μg/kg a u kojenecké výživy 0,2 μg/kg v přepočtu na obnovené mléko.

Šetření prováděné hygienickými stanicemi a potravinářskými laboratořemi ukázalo, že nadměrný výskyt aflatoxinů je u uvedených komodit většinou mimořádný, přesto však dochází k jejich výskytu v množství pohybujícím se kolem limitních hodnot. V poslední době je nebezpečí nadlimitního výskytu aflatoxinů v potravinách a surovinách opět zvýšené, a to zvláště vzhledem k dovozu těchto komodit ze zahraničí (Ade nsam, 1994). Proto se ukazuje zvýšený zájem o metody jejich stanovení.

V průběhu minulých let byly publikovány četné práce pojednávající o metodách důkazu i kvantitativního stanovení aflatoxinů, především aflatoxinu B₁, v různých potravinářských a krmivářských materiálech (Werner, 1991; Haghghi Bahram, 1981; Adensam et al., 1992; Adensam, Lebedová, 1992; Thean et al., 1980). Po dlouhou dobu byly upřednostňovány i v současné době používané metody chromatografie na tenkých vrstvách (TLC), a to jak pro identifikaci, tak i pro semikvantitativní a kvantitativní stanovení, které umožňovaly využít široké palety vyvíjecí techniky i kombinace různých rozpouštědel v mobilní fázi. Asi od roku 1980 je v literatuře pojednáváno o stanovení aflatoxinů imunochemickými metodami (Werner, 1991). Tyto metody však dávají jen částečně uspokojující výsledky a neumožňují stanovení jednotlivých aflatoxinů (Horwitz et al., 1993; Cuartero et al., 1990; Boehm et al., 1984; Cu, 1984). Proto byly AOAC doporučeny jen jako screeningové metody pro určení aflatoxinů B₁ v bavlníkovém semenu a směsném krmivu pro hodnoty vyšší než 15 µg/kg (Official method of analysis, 1990). Protože pro kontrolu nezávadnosti potravin je třeba stanovovat hodnoty menší než 5 µg/kg a rozlišit jednotlivé typy aflatoxinů, nejsou ELISA, resp. RIA metody schopny tyto nároky uspokojit.

Postupujícím vývojem vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) vznikají nové metody kvantitativního stanovení aflatoxinů, které jsou stále více uplatňovány i v rutinní praxi. Protože tato technika vyžaduje podstatně vyšší čistotu vyzolovaného analytu, jsou často TLC a imunochemické metody používány jako screeningové a teprve v případě kladného nálezu aflatoxinu je po další purifikaci provedeno kvantitativní stanovení metodami TLC nebo HPLC. Metoda HPLC dosahuje vysoké citlivosti a přesnosti díky dobremu dělení na kolonách s reversní fází a fluorescenční detekci po derivatizaci analytu.

Purifikace extraktu aflatoxinů za účelem odstranění nežádoucích a rušivých doprovodných látek pro stanovení metodou HPLC, resp. TLC se většinou stále ještě provádí klasickými postupy, zahrnujícími extrakci aflatoxinu ze vzorku, zahuštění, srážení bílkovin, odstředování, extrakci kapalina–kapalina, odpařování, čištění na koloně a opětné odpařování, což jsou úkony pracovně a časově velmi náročné, přičemž mohou být i častým zdrojem chybných výsledků. Proto v poslední době nacházejí pro tento účel použití selektivní imunoafinitní chromatografické metody. Ke kvantitativnímu zachycení aflatoxinů z extraktu byly vyvinuty separační kolonky,

např. Aflaprep firmy Rhone-Poulenc (Firemní literatura, 1994) obsahující monoklonární antičástice vázané na pevném nosiči, specifické pro aflatoxiny B₁, B₂, G₁ a G₂. Při průtoku extraktu kolonkou se aflatoxiny pevně vážou na antičástice v gelové suspenzi a po promytí kolonky vodou se z komplexu uvolní metanolem. Na stejném principu je založen i rychlý důkaz a semi-kvantitativní stanovení aflatoxinů; tyto kolonky pod názvem Aflascan jsou dodávány s adsorpčními trubičkami obsahujícími florisil, v nichž se aflatoxiny uvolněné z kolonky metanolem zachytí a stanovuje se jejich koncentrace na základě porovnání fluorescence v UV světle se standardem. Tak je možné velmi rychle provést důkaz i semikvantitativní stanovení aflatoxinů. Obdobné kolonky jsou dodávány i dalšími výrobci (Firemní literatura).

Na imunoafinitních kolonkách vyizolované a vyčištěné aflatoxiny lze potom přímo rozdělit na koloně HPLC a vyhodnotit je buď detekcí v UV oblasti při 365 nm, nebo detekcí fluorescenční, která je řádově citlivější. Fluorescenční detekci aflatoxinů B₁ a G₁ však nelze s vysokou citlivostí provést bez určitých úprav detektoru nebo bez jejich derivatizace. Úprava detektoru spočívá v naplnění průtokové kyvety silanizovaným křemičitým gelem, který řádově zvyšuje fluorescenci těchto aflatoxinů. Protože kyvety plněné křemičitým gelem nejsou komerčně dodávány a jejich příprava je u moderních mikrokyvet prakticky nemožná, je výhodné provést derivatizaci aflatoxinů B₁ a G₁ hydrolyzou kyselinou trifluoroctovou, při níž se hydratuje dvojná vazba furanového kruhu na odpovídající hemiacetály označované jako B_{2a} a G_{2a}. Tyto deriváty mají vysokou fluorescenci a umožňují stanovení velmi malých koncentrací aflatoxinů. Mez stanovitelnosti se potom pohybuje pod 0,1 µg/kg.

Vzhledem k tomu, že se u nás dosud extrakce aflatoxinů ze vzorku za použití imunoafinitního čištění extraktu s následnou derivatizací a HPLC stanovením běžně nepoužívá, je cílem této práce seznámit s ní širší odbornou veřejnost.

MATERIÁL A METODY

- Materiál* – vzorky kukuřičné krupice kontaminované aflatoxiny B₁, B₂, G₁, G₂ a křupky pokusně vyrobené z této krupice (připraveno ve VÚPP)
- referenční materiál ječné mouky s arašídou přirozeně kontaminované aflatoxiny B₁, B₂, G₁ a G₂ (dodán Státním zdravotním ústavem, Brno, který jej získal v rámci programu

FAPAS – Food Analysis Performance Assessment Scheme od
MAFF – Britské ministerstvo zemědělství, rybolovu a potravinářství

- Chemikálie* – aflatoxiny od fy Sigma (Kit AF-1 obsahující 4 aflatoxiny B₁, B₂, G₁, G₂ po 1 mg nebo A 9441 - směsný standard aflatoxinů obsahující po 25 µg aflatoxinů B₁ a G₁ a po 7,5 µg aflatoxinů B₂ a G₂)
- kyselina octová 98% čistá, Lachema
 - kyselina trifluoroctová, Sigma
 - metanol pro chromatografii, Merck
 - metanol p.a., Lachema
 - acetonitril pro chromatografii Merck
 - chlorid sodný p.a. Lachema
 - deionizovaná voda pro chromatografii
 - chloroform p.a.
- Přístroje* – kapalinový chromatograf Spectra-Physics o sestavě: binární gradientová pumpa P 200, fluorescenční detektor FL 2000 a integrátor Data Jet
- Separáční kolonka* – typu Aflascan nebo Aflaprep s dávkovacím skleněným válečkem a plastickou stříkačkou, výrobce Rhone-Poulenc Diagnostics, Glaskow, dodává např. firma Propeka Trading s.r.o. Bratislava nebo firma Lackner, Mödling, Rakousko

Stanovení aflatoxinů

Extrakce aflatoxinů ze vzorku

Z reprezentativního, dobře promíchaného a jemně umletého vzorku se odváží přesně 10,00 g do 250ml zábrusové baňky, přidá se 0,8 g NaCl, připepuje se 50 ml 60% metanolu, uzavře se a 1 minutu se prudce třepe. Potom se zfiltruje skládaným filtrem, 5 ml filtrátu se zředí 10 ml destilované vody, v případě potřeby znovu zfiltruje a 5 ml tohoto zředěného filtrátu se pipetuje do skleněného válečku nasazeného na připravenou kolonku. Filtrát se nechá protékat kolonkou rychlostí cca 2 ml/min. Regulace průtoku je možná buď plastickou stříkačkou nasazenou na dávkovací skleněný váleček, nebo tlakem vzduchu získaným použitím dvou spojených nádob o nestejně výšce hladiny, případně i použitím vakuového systému pro separáční kolonky. Po vyprázdění obsahu skleněného válečku se do něho ihned přidá 10 ml deioni-

zované vody a nechá se stejnou rychlostí prokapat kolonkou. To se opakuje ještě jednou, potom se nechá veškerá kapalina z kolonky vykapat a zbytek se vytlačí několika zdvihy stříkačky. V kolonce nesmí zůstat žádná voda, zbytky se odstraní vysušením mírným proudem dusíku.

Eluce aflatoxinů z kolonky

Do vysušené kolonky, pod kterou se postaví hnědá 5ml vialka, se přidá 1 ml chromatograficky čistého metanolu a nechá se protékat kolonkou rychlostí cca 1 kapka za sekundu. Denaturace vazby antičástice – aflatoxin vyžaduje určitý čas kontaktu extrakčního činidla s antičásticemi. Aby denaturace komplexu a extrakce aflatoxinu byla dokonalá, zastaví se pomocí zpětného zdvihu stříkačky průtok metanolu kolonkou a nechá se minimálně 30 s v kolonce působit, případně se po průtoku metanolu provede 2–3krát jeho zpětné nasátí do kolonky a opětné vytlačení. Kolonka se potom ještě 4krát promyje 0,5 ml metanolu. Spojené metanolové extrakty se odpaří v exikátoru při teplotě místnosti za vakua.

Derivatizace

Do vialky s odparkem aflatoxinů se přesně odpipetuje 1 ml čerstvě připraveného derivatizačního činidla o složení 8 ml deionizované vody, 1 ml kyseliny trifluoroctové a 1 ml kyseliny octové. Vialka se uzavře, vloží se na několik minut do ultrazvukové lázně a potom na 15 min do vodní lázně o teplotě 55 °C. Po ochlazení se z obsahu vialky přímo nastříkuje do dávkovací smyčky HPLC.

Příprava standardních roztoků aflatoxinů

a) U aflatoxinů s přesně nedeklarovanou koncentrací se připraví základní roztoky jednotlivých aflatoxinů v chloroformu v množství 1 mg ve 100 ml. Přesná koncentrace těchto roztoků se zjistí proměřením jejich absorpčních křivek na spektrofotometru a vypočte se z jejich maximální hodnoty extinkce E_{\max} podle vzorce:

$$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} = \frac{E_{\max} \cdot M \cdot 1000}{E}$$

kde pro roztoky jednotlivých aflatoxinů platí:

aflatoxin	<i>M</i>	<i>E</i>	aflatoxin	<i>M</i>	<i>E</i>
B ₁	312	22 300	G ₁	328	20 600
B ₂	314	23 900	G ₂	330	19 000

Ze základních roztoků se ředěním chloroformem připraví pracovní roztoky, sloužící jako vnější nebo vnitřní standard. Většinou se připravují směsné pracovní kalibrační roztoky všech čtyř aflatoxinů, obsahující v 1 ml cca 500 pg jednotlivých aflatoxinů.

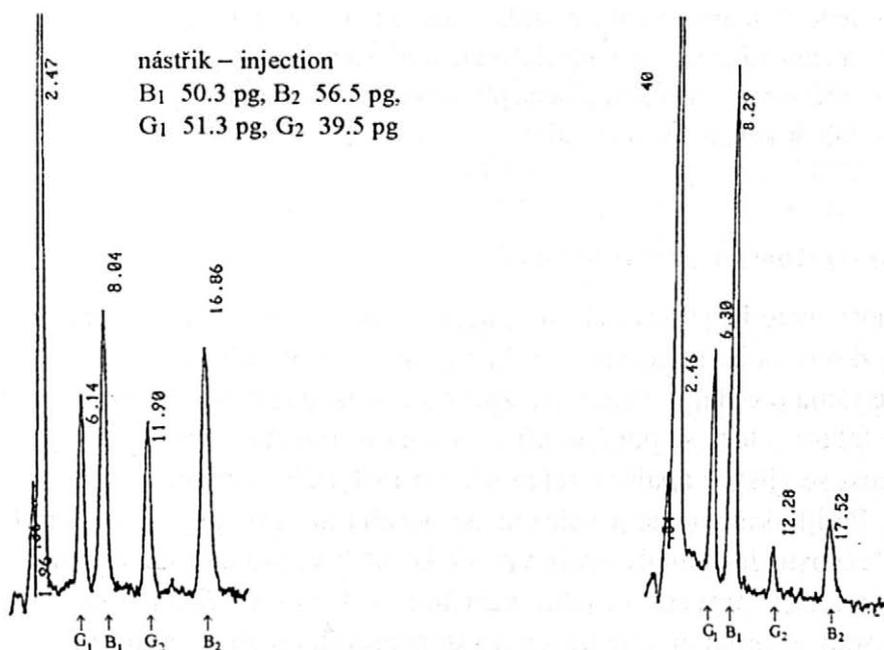
b) V případě standardů aflatoxinů obsahujících přesné množství všech čtyř složek (B_1 a G_1 po 25 μg a B_2 a G_2 po 7,5 μg) se získá jejich rozpuštěním v chloroformu základní roztok, který se dále ředí na pracovní koncentraci obsahující v 1 ml po 500 pg B_1 a G_1 a po 150 pg B_2 a G_2 .

Kalibrační stanovení

Do vialky se odpipetuje přesně 1 ml zředěného standardu o známé koncentraci, odpaří se, zderivatizuje a provede se stanovení na HPLC za stejných podmínek jako u vzorku (obr. 1).

Analýza referenčního materiálu

Ječná mouka s arašidy přirozeně kontaminovaná deklarovaným obsahem aflatoxinů ($\mu\text{g}/\text{kg}$): B_1 – 8,03, B_2 – 1,24, G_1 – 4,19 a G_2 – 0,94 byla analyzována uvedeným postupem na obsah aflatoxinů (obr. 2).



1. Chromatogram standardních roztoků aflatoxinů po derivatizaci – Chromatogram of standard solutions of aflatoxins after derivatisation

2. Chromatogram aflatoxinů v referenčním materiálu – Chromatogram of aflatoxins in referent samples

Podmínky HPLC stanovení

kolona: Skleněná kolona CGC Tessec SGX C18 150 x 3,3 mm zrnitost
5 μm, s předkolonou

mobilní fáze: deionizovaná voda : acetonitril : metanol (60 : 20 : 20)

nástřik na kolonu: 100 μl

průtok mobilní fáze: 0,5 ml/min

excitační vlnová délka: 364 nm

emisní vlnová délka: 456 nm

Citlivost přístrojů se nastaví na maximum při ještě akceptovatelném šumu
blankové linie.

Výpočet obsahu aflatoxinů ve vzorku

Provádí se na základě srovnání velikosti ploch píků jednotlivých aflatoxi-
nů ve vzorku a standardu. Při dodržení popsaných parametrů se obsah jed-
notlivých aflatoxinů vypočte podle vzorce:

$$\text{obsah aflatoxinu } (\mu\text{g. kg}^{-1}) = \frac{G \cdot P_v \cdot 3 \cdot 10^{-2} \cdot f}{P_s}$$

kde: G – hmotnost aflatoxinu v nástřiku standardu na kolonu (pg)

p_v – integrovaná relativní plocha píku aflatoxinu u vzorku

p_s – integrovaná relativní plocha píku aflatoxinu u standardu

f – faktor korekce výtěžnosti

Výtěžnost a faktor korekce výtěžnosti

Výtěžnost metody je závislá na způsobu extrakce použitého extrakčního
činnidla a zkoušeného materiálu a pohybuje se mezi 60–90 %.

Proto je třeba pro daný materiál a způsob extrakce stanovit výtěžnost a její
korekční faktor, který se použije při výpočtu obsahu aflatoxinů.

Výtěžnost se zjistí z analýzy referenčního materiálu o známém obsahu af-
latoxinu. Podíl skutečného a nalezeného obsahu aflatoxinu je faktorem ko-
rekce výtěžnosti. Je-li analyzován vzorek komodity, pro kterou není předem
známa výtěžnost, provede se jeho normální analýza (A). K další stejné na-
vážce vzorku se přidá známé množství standardního roztoku aflatoxinu, od-
paří se a provede se stanovení (B).

$$\text{výtěžnost [\%]} = \frac{B - A}{C} \cdot 100$$

- kde: B – aflatoxin stanovený ve vzorku s přidaným standardem ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
 A – aflatoxin stanovený v původním vzorku ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
 C – standard aflatoxinu přidaný ke vzorku ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)

Korekční faktor výtěžnosti $f = 100 / \text{výtěžnost}$

VÝSLEDKY A DISKUSE

V článku je podrobně popsán způsob imunoafinitní extrakce aflatoxinů a jejich následné stanovení v surovinách, potravinách a krmivech metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí. Pro dosažení vysoké citlivosti u aflatoxinů B_1 a G_1 , které mají nižší fluorescenci v UV světle proti aflatoxinům B_2 a G_2 , se provádí jejich derivatizací spočívající v hydrataci dvojně vazby furanového kruhu na odpovídající hemiacetály označované jako B_{2a} a G_{2a} o vysoké fluorescenci.

Problematickou pro použití kapalinové chromatografie je nutnost vysoké čistoty vyizolovaného analytu, která se dosud provádí velmi náročnou několikanásobnou extrakcí, odpařováním a čištěním na koloně, což je nejen značně náročné na čas i pracovní postupy, ale je také častým zdrojem chybných výsledků. Proto bylo úspěšně ověřeno použití selektivních imunoafinitních separačních kolonek Aflaprep a Aflascan, zachycujících vázanými monoklonárními antičásticemi aflatoxiny B_1 , B_2 , G_1 a G_2 z nečistěného extraktu vzorku. Aflatoxiny zachycené na kolonci se po vymytí balastních látek kvantitativně z kolonky uvolní a mohou být po derivatizaci přímo stanoveny HPLC/FLD.

I když uvedené separační kolonky jsou poměrně finančně náročné – kolonka pro jedno stanovení stojí cca 330 Kč, jejich použití odstraní náročnou práci (finančně nevyčíslovanou) i spotřebu drahých extrakčních činidel (v cenách firmy Merck cca 250 Kč).

Správnost výsledků metody byla ověřena v mezilaboratorním testu organizovaném SZÚ Praha, Centrum hygieny potravinových řetězců v Brně, a zhodnocena Akreditačním střediskem laboratoře pro rozborů složek životního prostředí a lékařské mikrobiologie při SZÚ Praha. Výsledky námi popisované metody nebyly souběžně porovnávány s výsledky získanými klasickou extrakcí, purifikací a detekcí TLC, avšak vzhledem k tomu, že mezilaboratorního testu se s vyhovujícími výsledky účastnily i laboratoře používající „klasickou metodu“, lze konstatovat, že výsledky našeho pracovního postupu jsou s nimi srovnatelné. Jeho předností je však podstatné snížení pracovního času a časové náročnosti při srovnatelných finančních nákladech.

Literatura

- ADENSAM, L.: Výskyt mykotoxinů v potravinách a potravinových surovinách – zhodnocení výsledků NRL za rok 1990–1994. In: Konzultační den o nových poznacích v oblasti mykotoxinů. Brno 1994.
- ADENSAM, L. – LEBEDOVÁ, M.: Stanovení aflatoxinů v ořechovinách. Prům. Potravn., 43, 1992.
- ADENSAM, L. – LEBEDOVÁ, M. – TUREK, B.: Stanovení aflatoxinů v pивě a černém a bílém pepři. Prům. Potravn., 43, 1992: 11–12.
- ADENSAM, L. – LEBEDOVÁ, M. – TUREK, B.: Stanovení velmi nízkých koncentrací aflatoxinů. Čs. Hyg., 31, 1986.
- BÖHM, J. et al.: Determination of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ in maize and peanut butter and aflatoxin M₁ in dried milk by HPLC with modified fluorescence detection. Ernährung, 8, 1984: 675–677.
- CU, F. S.: Immunoassays for analysis of mycotoxins. J. Food Protect., 47, 1984: 562–569.
- CUARTERO, M. et al.: Evaluation of two immunological methods for determination of aflatoxins B, G and M in foods. Ann. Fals. Expert. Chim. Toxic., 83 (885), 1990, 63–82.
- HAGHIGHI BAHRAM: Development of a sensitive high-performance liquid chromatographic method for determination of aflatoxins in pistachio nuts. J. Chromatogr., 206, 1981: 101–108.
- HORWITZ, W. – ALBERT, R. – NESHEIM, S.: Reliability of mycotoxin assays – an update. J. AOAC Int., 76, 1993: 461–491.
- RUPRICH J.: Mykotoxiny – vznik, charakteristika, účinky na člověka. In: Sem. Aktuální ekologické otázky. Praha 1992.
- THEAN, J. E. et al.: Extraction, cleanup and quantitative determination of aflatoxin in corn. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 63, 1980: 631–633.
- WERNER, G.: Bestimmung der Aflatoxine in Futtermitteln nach selektiver Reinigung an einer Immunoaffinitätsaule. Agribiol. Res., 44, 1991: 4.
- Official Method of Analysis. AOAC Arlington, Virginia, 15th Ed. 1990: 1184 až 1203.
- Firemní literatura: Aflaprep-Beschreibung des Einsatzes als Probenvorbereitung für Quantitative Aflatoxinbestimmung mit der HPLC oder TLC Methode. Anglie, Rhone-Poulenc 1994.
- Firemní literatura: Easi-extract columns for Aflatoxin analysis. Biocode Ltd, Anglie.
- Firemní literatura: Target for Aflatoxin. Terratek USA.

Došlo 3. 4. 1995

Kontaktní adresa:

Dipl. tech. Zdeněk Veselý, Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7,
102 31 Praha 10, Česká republika, tel.: 02/702 331, fax: 02/701 983

DETEKCE NĚKTERÝCH ENZYMŮ V HEPATOPANKREATU KAPRA*

Detection of Enzymes in Hepatopancreas of Carp (*Cyprinus carpio*)

Milena Kminková, Zdeněk Moučka, Jiří Kučera

Food Research Institute Prague, Prague, Czech Republic

Abstract: The activity of known hepatic enzymes in hepatopancreas of carp was studied with the aim to find new sources of enzymes used in biochemical and clinical analysis. The enzymes studied were typical dehydrogenases, like alcohol dehydrogenase, lactate dehydrogenase, malate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase, as well as, some other enzymes, as β -galaktosidase, urease and phenylalanine:ammonia lyase. The enzyme activities were summarized. The enzymes suitable for preparative purposes were selected (malate dehydrogenase and lactate dehydrogenase). The activity of glutamate dehydrogenase was found to be on the border of the preparatively utilizable value and that of other enzymes seems to be very low. Surprisingly, low total activity was found even in the case of glucose-6-phosphate dehydrogenase, which is the enzyme necessary for the metabolism of sugars. The comparison of the results obtained with those published for shark, crab, crayfish and mollusc shows the similarity between those animal and warmblooded animals.

carp; *Cyprinus carpio*; hepatopancreas; dehydrogenases; detection; alcohol dehydrogenase; lactate dehydrogenase; malate dehydrogenase; glucose-6-phosphate dehydrogenase; glutamate dehydrogenase; urease; phenylalanine:ammonia lyase

Absatrakt: V hepatopankreatu kapra (*Cyprinus carpio*) byla potvrzena přítomnost typicky hepatických enzymů, jejichž přítomnost v játrech teplokrevných živočichů je známá. Tak byla nalezena alkoholdehydrogenasa (Alkohol:NAD oxidoreduktase, E C 1.1.1.1), laktátdehydrogenasa (L-Lactate:NAD oxidoreduktase, E C 1.1.1.27), malátdehydrogenasa (L-Malát:NAD oxidoreduktase, E C 1.1.1.37), glukosa-6-fosfátdehydrogenasa (D-Glukose-6-phosphate:NADP oxidoreduktase, E C 1.1.1.49), glutamátdehydrogenasa (L-Glutamate:NAD(P) oxidoreduktase deaminující, E C 1.4.1.3), ureasa (Urea aminohydrolase, E C 3.5.1.5), β -galaktosidasa (β -D-galactoside galactohydrolase, E C 3.2.1.23)

* Práce byla vykonána za podpory Grantové agentury ČR, grantem č. 509/95/06045.

a fenylalanin: amoniak lyasa (L-Phenylalanine: amoniak lyasa, E C. 4.3.1.5). Byla stanovena aktivita uvedených enzymů na 1 g surového materiálu. Výsledky ukazují, že některé z těchto enzymových aktivit jsou natolik vysoké, že lze reálně uvažovat o jejich izolaci a použití. Do této skupiny patří především malátdehydrogenasa, laktátdehydrogenasa a β -galaktosidasa. Aktivita některých dalších enzymů v jednotce suroviny je na hranici preparativního využití. Sem patří např. alkoholdehydrogenasa. Aktivita jiných enzymů jsou příliš nízké pro takový účel. Je překvapující, že nízkou aktivitu vykazuje i glukosa-6-fosfátdehydrogenasa, která je nezbytnou součástí metabolismu sacharidů.

kapr, *Cyprinus carpio*; hepatopankreas; dehydrogenasy; detekce; alkoholdehydrogenasa; laktátdehydrogenasa; malátdehydrogenasa; glukosa-6-fosfátdehydrogenasa; glutamátdehydrogenasa; ureasa; fenylalanin : amoniak lyasa

Dehydrogenasy patří k nejčastěji používaným enzymům v potravinářské analýze. Jejich použití pro specifické stanovení jednotlivých substrátů bylo předmětem řady podrobných studií týkajících se jak použití specifických enzymů pro stanovení jednotlivých substrátů (např. Barker, 1989), tak i jednotlivých analytických technik (např. Ogbomo et al., 1991). Významné je také použití dehydrogenas pro stanovení některých nebezpečných látek v životním prostředí (Vaughan, Mopper, 1990) nebo k průkazu kontaminace potravin (Berger-Lang, Beutler, 1986).

Dehydrogenasy se také uplatňují při některých technologických operacích, jako je např. úprava nebo syntéza aromatu (West, 1987) nebo některé náročné postupy v organické syntéze (Annon, 1988; Dordick, 1989).

Zdrojem dehydrogenas jsou vnitřnosti jatečných zvířat, především játra. Tento zdroj je sice dosud dostatečný, ale při stále vzrůstající spotřebě je vhodné hledat i další možnosti. Až dosud jsou v tomto směru zcela opomíjeny vnitřnosti studenokrevných živočichů, především ryb, které jsou rovněž k dispozici v poměrně velkém množství. V roce 1993 bylo např. v ČR vyprodukováno celkem 21 000 t ryb, z toho ve zpracovnách ryb zpracováno 1 600 t. Převážnou většinu těchto ryb představuje kapr. Průměrná váha vnitřností činí 30–40 % hmotnosti kapra (Sladkovodní ryby, 1994). Předpokládá se, že podíl zpracovávaných ryb na celkové spotřebě bude narůstat, jak to ukazuje i dlouhodobý vývoj v zemích EU.

Z uvedených důvodů jsme se zaměřili na detekci jednotlivých dehydrogenas v hepatopankreatu kapra s perspektivou pozdějšího výzkumu izolace

a purifikace enzymů přítomných v dostatečně vysoké koncentraci nebo vykazujících zvláště příznivé vlastnosti. Protože však i ureasa a fenylalanin:amoniak lyasa mohou mít význam zejména ve zdravotnictví a při výrobě některých speciálních chemikálií (např. výroba fenylalaninu z kyseliny skořicové), zjišťovali jsme i přítomnost těchto enzymů. Výsledky studia předkládáme v této práci.

MATERIÁL A METODY

Biologický materiál

Vnitřnosti jsme odebírali bezprostředně po zabití ryb a hepatopankreas separovali. Okamžitě potom byly hepatopankreaty zmrazeny na $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ a při této teplotě skladovány až do použití. Bezprostředně před použitím jsme hepatopankreaty rozmrazili (16 h, $5\text{ }^{\circ}\text{C}$) a zpracovali, jak je uvedeno dále.

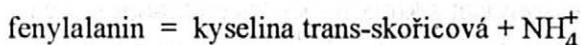
Příprava extraktu

50 g hepatopankreatu jsme nakrájeli na menší kousky a po přidání 75 ml 10 mM Tris-HCl pufru jsme míchali při teplotě $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 minut. Potom jsme extrakt odstředili za stejné teploty (13 000 g, 30 min) a takto získaný čirý supernatant jsme použili pro další práci.

Extrakt kvasinky *Torula* sp. kultivované na etanolu jsme připravili pro srovnání zdrojů tímto postupem: 20 g vlhkého mycelia jsme smísili s 20 ml toluenu a udržovali 17 hodin při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Potom byl toluen odstraněn a produkt plasmolysy byl odstředěn při 13 000 g, 30 minut při $5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Stanovení enzymových aktivit

Aktivitu alkoholdehydrogenasy jsme stanovili metodou, kterou popsal Dafeldecker et al. (1985) s použitím etanolu jako substrátu, aktivitu fenylalanin:amoniak lyasy modifikací metody pro stanovení ureasy podle tohoto schématu (Schlegel, Kaltwasser, 1974):



Úbytek NADH jsme stanovili fotometricky při 340 nm, aktivitu glukosa-6-fosfátdehydrogenasy jsme stanovili podle Lehra a Wallera (Lehr, Wal-

ler, 1974), aktivitu β -galaktosidasy mírně upravenou metodou, kterou uveřejnili Mahoney a Adamchuk (1980) s tím, že reakce probíhala při pH 6,8 v 0,05 M fosforečnanu draselném, aktivitu glutamátdehydrogenasy podle Regnauta (Regnaut, 1989), aktivitu laktátdehydrogenasy a malátdehydrogenasy metodou, kterou popsali Bergmeyer a Bernt (1974), a aktivitu ureasy podle Schlegela (Schlegel et al., 1974).

Celkové bílkoviny jsme stanovili metodou, kterou publikoval Hartree (1972).

NAD, NADH, NADP a všechny substráty analysovaných enzymů byly výrobky firmy SIGMA s výjimkou laktosy, která byla od firmy Fluka, všechny ostatní chemikálie byly výrobky firmy Lachema Brno, kvality chemicky čistý.

Stanovení aktivity jsme prováděli na skenovacím spektrofotometru typ PU8730, výrobku firmy Philips.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Přehled aktivit jednotlivých enzymů v hepatopankreatu kapra (enzymová aktivita na 1 g sušiny hepatopankreatu) je uveden v tab. I. Současně je v tabulce uvedena také specifická aktivita enzymu (U/mg bílkovin) v surovém extraktu. V případě alkoholdehydrogenasy jsme provedli předběžnou extrakci při pH 5,0, což vedlo k významnému vzrůstu specifické aktivity precipitací doprovodných bílkovin. Tento krok byl u ostatních enzymů neúspěšný, protože v kyselém prostředí docházelo k rychlé inaktivaci. Specifická aktivita alkoholdehydrogenasy z Toruly je vyšší než z hepatopankreatu (0,543 U na mg bílk.), ale aktivita na 1g sušiny suroviny je nižší (4,4 U/g suš.).

Z ostatních sledovaných enzymů je aktivita fenilalanin:amoniak lyasy, glukosa-6-fosfátdehydrogenasy a ureasy příliš nízká pro preparativní účely. Nízká celková aktivita je poněkud překvapující u glukosa-6-fosfátdehydrogenasy, protože jde o enzym, který je nezbytnou součástí metabolismu monosacharidů. Nízkou koncentraci tohoto enzymu lze snad vysvětlit jedine tím, že výživa kapra není závislá na cukerné složce. To se projevilo v našich dřívějších pracích např. tím, že jsme mimo krátká období na jaře a v počátku zimy nezjistili v hepatopankreatu větší aktivity amylas. Obsah β -galaktosidasy – 12,55 U/g sušiny bude patrně souviset s konzumací řas obsahujících galaktany.

Nízký obsah fenilalanin:amoniak lyasy a ureasy nepřekvapuje, protože první z těchto enzymů je minoritním, i když nezbytným enzymem u všech obratlovců, zatímco druhý enzym je nalézán spíše u mikroorganismů a rostlin a u obratlovců je většinou přítomen pouze po indukci močovinou přítomnou v krmivu.

I. Aktivita sledovaných enzymů v hepatopankreatu kapra – The activity of investigated enzymes in carp hepatopancreas

Enzym ¹	Vzorek ¹⁰	Specifická aktivita [U/mg bílk.] ¹⁵	Aktivita [U/g sušiny] ¹⁴
Alkoholdehydrogenasa ²	surový extrakt ¹¹	0,02	6,88
	extrakt po precipitaci při pH 5,0 ¹²	0,04	6,08
	extrakt ¹³ <i>Torula</i> sp. ^a	0,54	4,4
Fenylalanin:amoniak lyasa ³	surový extrakt ¹⁴	0,93	0
β -galaktosidasa ⁴	surový extrakt	0,035	12,55
Glukosa-6-fosfát dehydrogenasa ⁵	surový extrakt	0,014	0,501
Glutamátdehydrogenasa ⁶	surový extrakt	0,005	1,981
Laktátdehydrogenasa ⁷	surový extrakt	0,72	262,6
Malátdehydrogenasa ⁸	surový extrakt	13,04	4 776
Ureasa ⁹	surový extrakt	1,41	0

^a *Torula* sp. kultivovanou na etanolu jako jediném zdroji uhlíku věnoval pro tento účel dr. Adámek z oddělení mikrobiálních produktů VÚPP. Enzym byl stanoven v autolysátu – Ethanol-cultivated *Torula* sp. as the only carbon source was presented for this purpose by Dr. Adámek from the Microbial Products Department of Food Research Institute Prague. The enzyme was determined in an autolysate

¹enzym; ²alkohol dehydrogenase; ³phenylalanine:ammonia lyase; ⁴ β -galactosidase; ⁵glucose-6-phosphate dehydrogenase; ⁶glutamate dehydrogenase; ⁷lactate dehydrogenase; ⁸malate dehydrogenase; ⁹urease; ¹⁰sample; ¹¹raw extract; ¹²extract after precipitation at pH 5.0; ¹³extract; ¹⁴activity [U/g dry matter]; ¹⁵specific activity [U/mg proteins]

Naopak v preparativně významné celkové aktivitě se v hepatopankreatu kapra vyskytuje malátdehydrogenasa a laktátdehydrogenasa. Glutamátdehydrogenasa se pak vyskytuje v celkové aktivitě, která je na hranici preparativního využití.

Enzymy, které jsme prokázali v hepatopankreatu kapra, byly v poslední době nalezeny rovněž v játrech žraloka *Dalatias licha* (Silva, 1994). Podobně byly některé ze sledovaných dehydrogenas nalezeny i v hepatopankreatu slávky jedlé (*Mytilus edulis*) (Peek, Gabbott, 1989), krabů *Chaceon fenneri* a *Chaceon quinques* (Walsch, 1990) a raka (*Cancer pagurus*) (Regnault, Faigy, 1990). Z citovaných prací a námi zjištěných skutečností je možné očekávat, že v podstatě všechny hepatické enzymy známé u savců se budou ve větší či menší míře nacházet také v játrech nebo hepato-

pankreatech studenokrevných živočichů. Je tedy zřejmé, že zdroje těchto enzymů je možné s výhodou rozšířit na další biologické druhy využívané v potravinářském průmyslu.

L i t e r a t u r a

- ANNONYM: Enzymes in organic solvents: Properties and applications. J. Biotechnol., 8, 1988: 259–270.
- BARKER, S. A.: Biotechnology from European patent applications. Int. Ind. Biotechnol., 9, 1989: 33–35.
- BERGMEYER, H. U. – BERNT, E.: In: BERGMEYER, H. U. (Ed.): Lactat-Dehydrogenase in Methoden der enzymatische Analyse. B. I. Weinheim, Verlag Chemie 1974: 607–612.
- BERGMEYER, H. U. – BERNT, E.: In: BERGMEYER, H. U. (Ed.): Malat-Dehydrogenase. Methoden der enzymatischen Analyse. B. I. Weinheim, Verlag Chemie 1974: 649–652.
- BERGNER-LANG, B. – BEUTLER, H. O.: Enzymatische Bestimmung der D-(-)-3-Hydroxy-buttersäure in Eiprodukten. Dtsch. Lebensmitt. Rundschau, 82, 1986: 23–27.
- DAFELDECKER, W. P. – SHU-JIAN LIANG – VALLEE, B. L.: Simian liver ADH: Isolation and characterisation of isoenzymes from *Macaca nemestrina*. Biochemistry, 24, 1985: 6474–6479.
- DORDICK, J. S.: Enzymatic catalysis in monophasic organic solvents. Enzyme and Microb. Technol., 11, 1989: 194–211.
- HARTREE, E. F.: Determination of protein: Modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. Anal. Biochem., 48, 1972: 422–427.
- LEHR, G. W. – WALLER, H. D.: In: BERGMEYER, H. U. (Ed.): Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase in Methoden der enzymatische Analyse. B. I. Weinheim, Verlag Chemie 1974: 675–671.
- MAHONEY, H. R. – ADAMCHUK, S. A.: Effect of milk consistency on the hydrolysis of lactose from *Kluyveromyces fragilis*. J. Food Sci., 45, 1980: 962–964.
- OGBOMO, I. – KITSTEINER-EBERLE, R. – ENGLBRECHT, U. – PRINZING, U. – DANZER, J. – SCHMIDT, H. L.: Flow-injection systems for the determination of oxidoreductase substrates: Applications in food quality control and process monitoring. Anal. Chim. Acta, 249, 1991: 137–143.
- PEEK, K. – GOBBOTT, P. A.: Adipogranular cells from the mantle tissue of *Mytilus edulis*. 1. Isolation and biochemical characterization of dispersed cell dehydrogenases. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 126, 1989: 203–216.
- REGNAULT, M.: Glutamate dehydrogenase (GDH) in the cheliped muscle of the crab *Cancer p* L. – Effect of a prolonged starvation. Comp. Biochem. Physiol. (B), 92, 1989: 721–725.

- REGNAULT, M. - FAIDY, C.: Changes in GDH activity in the chela muscle of *Cancer pagurus* during the annual cycle. Effect of the moult stage. *Comp. Biochem. Physiol. (B)*, 96, 1990: 137–146.
- SCHLEGEL, H. G. – KALTWASSER, H.: In: BERGMAYER, H. U. (Ed.): *Urease in Methoden der enzymatische Analyse. B. I.* Weinheim, Verlag Chemie 1974: 1123–1127.
- SILVA, M. M. A., da – CORVO, M. – GRANCHER, L. – CRUZ, M. E. – PROENCA, M. F. – CLEMENTE, A.: Industrial valorization of shark s viscera from *Dalatias licha*. *Meded. Fac. Landb.-Wet., Univ. Gent.*, 59 (4a), 1994: 1813–1821.
- VAUGHAN, G. M. – MOPPER, K.: Determination of nanomolar levels of formate in natural waters based on a luminescence enzymatic assay. *Anal. Chim. Acta*, 231, 1990: 299–303.
- WALSCH, P. J. – HENR, Y R. P.: Activities of metabolic enzymes in deep-water crabs *Chaceon femmeri* and *C. quiquedens*. *Mar. Biol.*, 106, 1990: 343–346.
- WEST, S.: Flavouring with enzymes. *Food, Flavour. Ingrid, Packag. Process.*, 9, 1987: 39, 41, 43.
- Sladkovodní ryby. [Situační a výhledová zpráva]. Výzkumný ústav zemědělské ekonomiky: Praha, Ministerstvo zemědělství ČR, 1994.

Kontaktní adresa:

Ing. Milena K m í n k o v á, Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7,
102 31 Praha 10, tel.:02/702 331, fax: 02/701 983

**Nejčerstvější informace o časopiseckých člancích
poskytuje automatizovaný systém**

CURRENT CONTENTS
na disketách

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna odebírá časopis **Current Contents** řadu Agriculture, Biology and Environmental Sciences a řadu Life Sciences na disketách. Řada Agriculture, biology and Environmental Sciences je od roku 1994 k dispozici i s abstrakty. Obě tyto řady vycházejí 52krát ročně a zahrnují všechny významné časopisy a pokračovací sborníky z uvedených oborů.

Uložení informací z Current Contents na disketách umožňuje nejrozmanitější referenční služby z prakticky nejčerstvějších literárních pramenů, neboť báze dat je **doplňována každý týden** a neprodleně expedována odběratelům. V systému si lze nejen prohlížet jednotlivá čísla Current Contents, ale po přesném nadefinování sledovaného profilu je možné adresně vyhledávat informace, tisknout je nebo kopírovat na disketu s možností dalšího zpracování na vlastním počítači. Systém umožňuje i tisk žádank o separát apod. Kumulované vyhledávání v šesti číslech Current Contents najednou velice urychluje rešeršní práci.

Přístup k informacím Current Contents je umožněn dvojím způsobem:

1. **Zakázkový přístup** – po vyplnění příslušného zakázkového listu (objednávky) je vhodný především pro mimopražské zájemce.

Finanční podmínky: – použití PC – 15 Kč za každou započatou půlhodinu
– odborná obsluha – 10 Kč za 10 minut práce
– vytištění rešerše – 1 Kč za 1 stranu A4
– žádanky o separát – 1 Kč za 1 kus
– poštovné + režijní poplatek 15 %

2. **Self-service** – samoobslužná práce na osobním počítači v ÚZLK.

Finanční podmínky jsou obdobné. Vzhledem k tomu, že si uživatel zpracovává rešerši sám, je to maximálně úsporné. (Do kalkulace cen nezapočítáváme cenu programu a databáze Current Contents.)

V případě zájmu o tyto služby se obraťte na adresu:

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna

Dr. Bartošová

Slezská 7

120 56 Praha 2

Tel.: 02/25 75 41, l. 520, fax: 02/25 70 90

Na této adrese obdržíte bližší informace a získáte formuláře pro objednávku zakázkové služby. V případě „self-servisu“ je vhodné se předem telefonicky objednat. V případě zájmu je možné si objednat i průběžné sledování profilu (cena se podle složitosti zadání pohybuje čtvrtletně kolem 100 až 150 Kč).

ZMĚNY VISKOZITY JOGURTŮ VE VÝROBNÍ Lince*

Changes in Yoghurt Viscosity in a Production Line

Milan HOUSKA, Rudolf GRÉE, Karel KÝHOS, Rudolf ŽITNÝ¹, Jiří ŠESTÁK¹

Food Research Institute Prague, ¹Czech Technical University – Faculty of Mechanical Engineering, Prague, Czech Republic

Abstract: Mechanical treatment and flow of yoghurts through a production line cause a destruction of their original firm gelatinous structure to liquid and pasty states. The method of using milk thickeners or special ripening cultures to improve the yoghurt consistency is costly. Reduction in shear stress at yoghurt flow through the line is one of possible ways how to improve yoghurt consistency. The objective of this paper is to determine the points and kind of mechanical treatment in a typical yoghurt line, where changes in consistency arise, and to follow changes in yoghurt consistency during storage. A rotational rheometer Haake RV3 connected to a line recorder was used to measure yoghurt consistency. Standard arrangement of the rheometer (two coaxial cylinders) was replaced by another arrangement – a cylindrical vessel and vane stirrer (Fig. 1). The torque was determined at constant speed and thermostated sample. Samples to be evaluated of two kinds of yoghurt – Jola bílá, Grand bílý (their specifications see Table I) were taken at numbered points of the line as shown in Fig. 2. The mean shearing rate was calculated from the equation presented by the authors Castell-Perez et al. (1991), adjusted by estimate according to Metzner-Otto method for a star stirrer. Experimental data were applied to identify a rheological model of thixotropic liquid with two kinds of structure for the breakdown of intact gel within the range of shear rate 13.7 to 343 s⁻¹. To compare the effect of the line, the value of apparent viscosity was chosen at the shear rate 13.7 s⁻¹ determined after 780 s. The time history of the pattern of shear rate was estimated for the line in operation, assuming the flow of time independent power law fluid. Table II summarizes the results of the determination. Viscosity increase was also followed during storage. Samples in cups were stored at a constant temperature (5 °C) for 17 to 20 days. During that storage, sample viscosity was determined several times at the shear rate 13.7 s⁻¹ within the time interval of 0 to 780 s. Coagulate viscosities were measured in order to compare the effect of yoghurt

* Práce byla vykonána s podporou grantu č. 101/93/0625 GA-ČR.

composition (prepared by a standard procedure using starter and inoculation culture YC-180 Hansen, Denmark). Fig. 3 shows the curve of shearing stress for the yoghurt Grand bílý. Nonlinear regression was used to determine parameters of a rheological model (Table III). The identified model was integrated for model simulation of changes in consistency during flow through the line, following the particular leap changes in shear speed (Table IV). The data in Table IV show that the largest change in consistency occurs at a long-term (conduits and filling tank). Table V shows the values of apparent viscosities of yoghurt taken at the particular points of the line. They document a substantial decrease in yoghurt viscosity during flow through the production line (Figs. 4). Table V shows measurements of regeneration of yoghurt viscosity during storage. Yoghurt viscosity is increasing during storage. Higher-fat yoghurts (Grand bílý) have in general the higher values of relative viscosities than the lower-fat yoghurts (Jola bílá). Table VII provides the results of determining the effect of yoghurt composition on viscosity. The relations established demonstrate that viscosity is increasing with higher solids while it is decreasing with the higher fat content. Applying the experimental data linear correlations were determined, the interpretation of which can be used to estimate changes in yoghurt viscosity after an adjustment of its composition.

yoghurt; production line; viscosity; apparent viscosity; shearing stress; coagulate

Abstrakt: Mechanické zásahy a průchod jogurtu výrobní linkou způsobují destrukci jeho původní pevné gelovité struktury až k tekutým a kašovitým stavům. Metoda užití mléčných zahušřovadel či speciálních zracích kultur pro zlepšení výsledné konzistence jogurtů je ekonomicky náročná. Jedním z možných opatření pro zlepšení konzistence jogurtu je omezení smykového namáhání při jeho průchodu linkou. Cílem této práce bylo zjištění míst a druhu mechanického namáhání u typické linky, kde nastávají změny konzistence, a dále sledování změny konzistence jogurtů v průběhu skladování. Byl vytvořen nový model reologického chování jogurtů jako tixotropní látky se dvěma strukturálními parametry a analyzován průběh smykových rychlostí v jednotlivých aparátech linky. Pro jogurty s cíleným složením (tuk, sušina, pH) byly stanoveny počáteční a rovnovážné viskozity koagulátu. Získané lineární korelace dovolují odhadnout změny viskozity jogurtů vlivem složení.

jogurt; výrobní linka; smykové napětí; viskozita; struktura; reologický model; koagulát

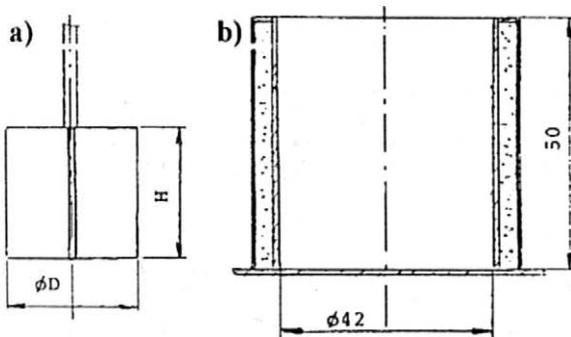
Při výrobě jogurtů ve velkokapacitních výrobních zařízeních dochází vlivem čerpání k destrukci gelovité struktury, vzniklé při zrání produktu. Tím se produkt původně známý jako pevný gel stává nevratně tekutým až kašovitým.

Výrobci ve snaze přiblížit se konzistenci klasických jogurtů se uchylují k zahušťování mléčné směsi buď sušeným, nebo zahuštěným mlékem, nebo použitím speciálních zracích kultur apod. Jednou z možných cest jak zvýšit konzistenci produktů je omezení smykového namáhání produktu při jeho průchodu linkou (Benezech, Maingonnat, 1994; Steven-ton et al., 1990). Na to je třeba dbát již ve fázi projektu zařízení (volba co nejkratších dopravních cest, volba chladičů s většími šterbinami, šetrná čerpadla). Tyto úpravy lze provést i na stávajícím zařízení. Tak je potenciálně možné ušetřit část suroviny vynakládané na zahuštění (za cenu určitých investic do stávajícího zařízení).

V této práci se pokusíme určit místa, kde na typické výrobní lince krémovitého jogurtu nastává největší změna konzistence a zda následně nastává regenerace konzistence během skladování.

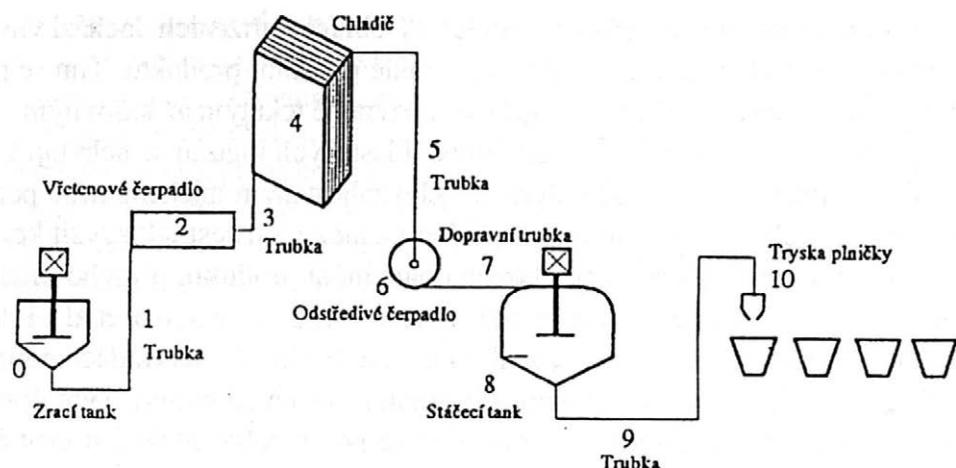
MATERIÁL A METODY

K měření konzistence byl použit rotační reometr Haake RV3 (SRN) ve spojení s liniovým zapisovačem TZ4200 (Laboratorní přístroje Praha). Aby nedocházelo k nedefinované destrukci vzorku při vkládání jogurtu do šterbiny mezi sousedé válce přístroje (standardní vybavení), použili jsme k měření křídlové míchadlo, jehož tvar je patrný z obr. 1. Jogurt byl šetrně lžičkou



1. Details o měření reologických vlastností jogurtů – Details of measurements of rheological properties in yoghurts
a) křídlové míchadlo se 4 rameny – wing stirrer four wings
b) nádobka – vessel

$D = H = 26$ mm; $T = a \alpha$ (T = krouticí moment – torque; α = dílky stupnice – scale division; a = tuhost měřicí pružiny – measuring spring rigidity); $\Gamma = 20,6$ N (Γ = střední smyková rychlost – mean shear rate; N = otáčky – rotations); Metzner-Ottova konstanta vypočtená metodou Rao, Cooley (1987) – Metzner-Otto constant calculated by the method according to Rao, Cooley (1987); geometrie – geometry



0 – ripening tank; 1, 3, 5, 9 – pipe; 2 – screw pump; 4 – cooler; 6 – centrifugal pump; 7 – conveying pipe; 8 – filling tank; 10 – filler nozzle

2. Schéma linky na výrobu jogurtu – Diagram of yoghurt production line

umístěn do měřicí nádoby s temperačním pláštěm (obr. 1). Po naplnění nádoby bylo míchadlo opatrně zasunuto shora do jogurtu. Po vytemperování na teplotu $20 \pm 0,3$ °C byly zapojeny konstantní otáčky rotoru a na zapisovači sledován krouticí moment. Teplota byla volena s ohledem na provozní teplotu jogurtu. Jogurt zraje při teplotě cca 39 °C, z níž je ochlazen v deskovém chladiči (umístěném poblíž zracích tanků) na teplotu 20 °C a při této teplotě dále zpracován a stáčen do kelímků. Schéma celé linky je na obr. 2. Technologické parametry měřených jogurtů jsou uvedeny v tab. I.

I. Technologické parametry sledovaných jogurtů – Technological parameters of yoghurts under observation

Název jogurtu ¹	Parametry ²	Název jogurtu	Parametry
Grand bílý	pH = 4,5, sušina ³ 22,67 % tuk ⁴ 11,76 % pasterační teplota ⁵ 98 °C výdrž 6 minut ⁶ Hansen YC-180 lyofilizovaná kultura ⁷ , dávka ⁸ 1 %, zrací teplota ⁹ 39,0 °C chlazení na ¹⁰ 20 °C	Jola bílá	pH = 4,5, sušina 22,00 % tuk 3,4% pasterační teplota 98 °C výdrž cca 6 minut Hansen YC-180 lyofilizovaná kultura, dávka 1 %, zrací teplota 39,0 °C, chlazení na 20 °C

¹yoghurt name; ²parameters; ³dry matter; ⁴fat; ⁵pasterurization temperature; ⁶6-minute dwell; ⁷lyophilized culture; ⁸batch; ⁹ripening temperature; ¹⁰cooling to

Vzorky jogurtů byly odebírány z různých míst linky – vzorek č. 1 ze zrcího tanku jako neporušený gel, vzorek č. 2 z potrubí za vřetenovým čerpadlem EPA, vzorek č. 3 za deskovým chladičem, vzorek č. 4 za odstředivým čerpadlem, vzorek č. 5 po průchodu dlouhou dopravní trubkou ze stáčecího tanku a vzorek č. 6 přímo z kelímku (po průchodu plničkou). Vlastní aparát tvořící linku jsou číslovány tak, jak je vyznačeno na obr. 2.

Z naměřených průběhů krouticího momentu při daných otáčkách byly stanoveny časové průběhy smykového napětí jako funkce smykové rychlosti.

Střední smykové napětí se stanovilo ze vztahu, který uveřejnili Castell-Perez et al. (1991):

$$\tau_{\text{mean}} = \left[\frac{\pi \cdot D^3}{2} \left(\frac{H}{D} + 1/3 \right) \right]^{-1} \cdot T$$

kde T – naměřený krouticí moment

Střední smyková rychlost se odhadla Metzner-Ottovou metodou podle podobného míchadla hvězdicového (rozdíl jen v počtu křídel) podle vztahu:

$$\Gamma = 20,6 \text{ N}$$

Z těchto dat byl identifikován reologický model tixotropní kapaliny s dvěma druhy struktury (Houška et al., 1994). Vzhledem k velmi pomalé regeneraci byl v tomto modelu zcela zanedbán zpětný nárůst viskozity. Model má tvar:

$$\tau = \tau_{y_1} \kappa_1 + K \Gamma^n \kappa_2 \quad [1a]$$

$$d\kappa_1 / dt = -b_1 \Gamma^{m_1} \kappa_1 \quad [1b]$$

$$d\kappa_2 / dt = -b_2 \Gamma^{m_2} \kappa_2 \quad [1c]$$

Pro $t = 0$, $\kappa_{0,12} = 1$ a pro $\Gamma = \text{konst}$ pro $t \geq 0$ model poskytuje

$$\tau = \tau_{y_1} e^{-b_1 \Gamma^{m_1} t} + K \cdot \Gamma^n e^{-b_2 \Gamma^{m_2} t} \quad [2]$$

Parametry modelu jsou tyto:

τ_{y_1} – mez toku (rychlejší rozpad)

K – koeficient konzistence (pomalejší rozpad)

$b_{1,2}$ – časové konstanty rozpadu

$m_{1,2}$ – exponenty (ovlivňují citlivost rychlosti rozpadu na smykovou rychlost)

n – index toku

Model byl identifikován pro rozbíjení dosud neporušeného gelu pro data stanovená při teplotě 20 °C pro rozsah frekvence otáčení míchadla 0,66 až 16,7 s⁻¹, což představuje smykové rychlosti 13,7 až 343 s⁻¹. Vzorky odebrané z dalších míst linky se měřily také při teplotě 20 °C, ale jen při smykové rychlosti 13,7 s⁻¹. Pro tuto smykovou rychlost se pak stanoví zdánlivá viskozita jogurtů jako poměr smykového napětí a smykové rychlosti

$$\mu = \frac{\tau}{\Gamma} \quad [3]$$

Pro hodnocení a srovnávání účinků linky byla vybrána jako nejnázornější hodnota zdánlivé viskozity stanovená při smykové rychlosti 13,7 s⁻¹ po velmi dlouhé době měření (zvolili jsme 780 s).

Pro danou linku jsme odhadli časový průběh smykové rychlosti (deformační historii). Odhad vycházel z předpokladu, že zařízeními teče časově nezávislá mocninová kapalina téhož indexu toku jako byl stanoven identifikací modelu (1a–c). Doby působení byly odhadnuty pro potrubí a chladič jako střední doby zdržení z odhadnutého objemu a průtočného množství (5 m³/h). U plnicí trysky byla stanovena doba plnění kelímku stopkami, proteklé množství bylo dáno skutečnou náplní kelímku. V potrubí od stáčecího tanku k plničce je menší průtočné množství dané výkonem plničky (cca 2,6 m³/h). Výsledky stanovení jsou uvedeny v tab. II. U potrubí jde o smykovou rychlost u stěny.

V rámci experimentů se sledoval též nárůst viskozity jogurtů během skladování. Jogurty stočené do kelímků byly skladovány v chladničce při teplotě cca 5 °C po dobu 17–20 dnů a v určitých časových intervalech bylo provedeno měření viskozity při smykové rychlosti 13,7 s⁻¹. Byl sejmuto celý průběh smykového napětí na čase a odečtena a vypočtena hodnota viskozity pro 780 s.

Pro porovnání vlivu složení jogurtů byly měřeny viskozity koagulátu připraveného laboratorně. Před zakysáním byla mléčná směs temperována po dobu 5 hodin při teplotě 38 °C a poté přidán startovací zákys připravený očkovaním kultury YC-180 Hansen, Dánsko. Po zakysání dávkou 1 % byl jogurt ponechán zrát po dobu 6,5 hodin při teplotě 38 °C. Koagulát byl definovaným způsobem šetrně rozmíchán, stanovena hodnota pH a proměřen průběh smykového napětí v závislosti na čase při konstantní smykové rychlosti 13,7 s⁻¹. Hodnoty smykového napětí byly odečítány po 780 s měření.

II. Vypočtené hodnoty smykových rychlostí a dob zdržení v jednotlivých částech linky – Calculated values of shear rates and times of residence

Zařízení ¹	Číslo ²	Doba působení ³ [s]	Smyková rychlost ⁴ [s ⁻¹]
Zrací tank ⁵	0	0	0
Trubka ⁶	1	4,1	G 257 J 293
Vřetenové čerpadlo ⁷	2	0,7	435
Trubka	3	14,0	G 257 J 293
Chladič ⁸	4	25,0	G 1 385 J 1 889
Trubka	5	1,4	G 257 J 293
Odstředivé čerpadlo ⁹	6	2,2	2 380
Převravní trubka ¹⁰	7	61,0	G 257 J 293
Stáček tank ¹¹	8	1 200,0	7
Trubka	9	7,0	G 135 J 154
Tryska plničky ¹²	10	0,5	G 2291 J 2903

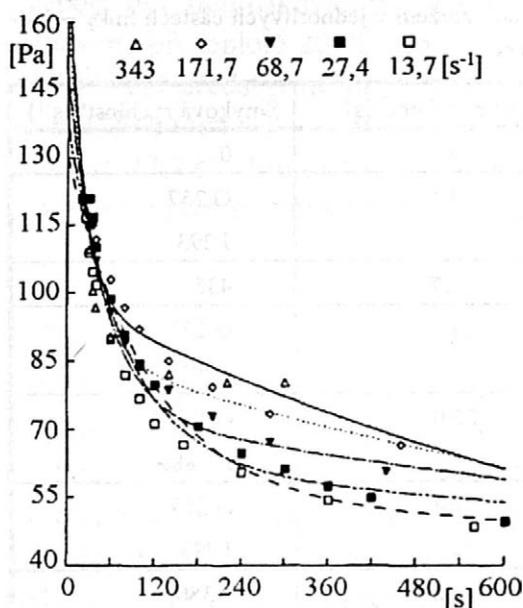
G – Grand bílý, J – Jola bílá

¹equipment; ²number; ³time of action; ⁴shear rate; ⁵ripening tank; ⁶pipe; ⁷screw pump; ⁸cooler; ⁹centrifugal pump; ¹⁰conveying pipe; ¹¹filling tank; ¹²filler nozzle

VÝSLEDKY A DISKUSE

Typické průběhy smykového napětí v závislosti na čase působení dané smykové rychlosti jsou pro jogurt Grand bílý uvedeny na obr. 3. Metodou nelineární regrese těchto dat byly stanoveny (identifikovány) parametry reologického modelu.

Výsledky identifikace parametrů modelu jednotlivých druhů jogurtu jsou uvedeny v tab. III. Z hodnot parametrů b_1 a b_2 vyplývá, že struktura charakterizovaná strukturálním parametrem č. 1 se rozbíjí řádově rychleji než struktura charakterizovaná strukturálním parametrem č. 2. Jinými slovy: Mez toku se



3. Závislost smykového napětí [Pa] na čase [s] (jogurt Grand bílý) – Relationship between the shearing stress [Pa] and time [s] (Grand bílý yoghurt)

odbourává velmi rychle, konzistence daleko pomaleji a s menší citlivostí na smykovou rychlost (u Joly prakticky nezávislá, m_2 je téměř nulové).

Identifikovaný model byl integrován po jednotlivých skokových změnách smykové rychlosti, abychom simulovali skutečné změny konzistence podél linky. Výsledky integrace jsou vyjádřeny pro oba druhy jogurtů nezávisle pro oba strukturální parametry v tab. IV. Z tabulky je zřejmé, že mez toku se

III. Číselné hodnoty parametrů modelu – Numerical values of model parameters

Druh jogurtu ¹	Parametry modelu ²	sf
Grand bílý	$\tau_{y_1} = 75,4 \text{ Pa}$ $K = 34,2 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$ $n = 0,18$ $b_1 = 2,32 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{\text{m}-1}$ $b_2 = 4,64 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{\text{m}-1}$	4,4 Pa
Jola bílá	$\tau_{y_1} = 52 \text{ Pa}$ $K = 55,7 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$ $n = 0,12$ $b_1 = 3,183 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{\text{m}-1}$ $b_2 = 6,552 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{\text{m}-1}$	5,5 Pa

¹yoghurt kind; ²model parameters

IV. Vypočtené průběhy strukturálních parametrů jogurtu podél výrobní linky – Calculated patterns of structural parameters of yoghurt throughout the production line

Zařízení ¹	Grand bílý		Jola bílá	
	K ₁	K ₂	K ₁	K ₂
1 – trubka	0,807	0,996	0,342	0,996
2 – vřetenové čerpadlo	0,778	0,996	0,284	0,996
3 – trubka	0,446	0,986	0,018	0,987
4 – chladič	0,042	0,949	0	0,970
5 – trubka	0,040	0,948	0	0,969
6 – odstředivé čerpadlo	0,031	0,944	0	0,968
7 – dopravní trubka	0,003	0,905	0	0,929
8 – stáčecí tank	0	0,785	0	0,420
9 – trubka	0	0,782	0	0,419
10 – tryska plnicí	0	0,781	0	0,418

Hodnoty platí pro výstup z odpovídajícího zařízení linky jogurtu podél výrobní linky – The values apply to outlet from the corresponding equipment of yoghurt line

For 1-10 see Fig. 2

odbourá prakticky již za chladičem, zatímco k největší změně konzistence dochází při dlouhodobém namáhání (dopravní trubka a zejména stáčecí tank).

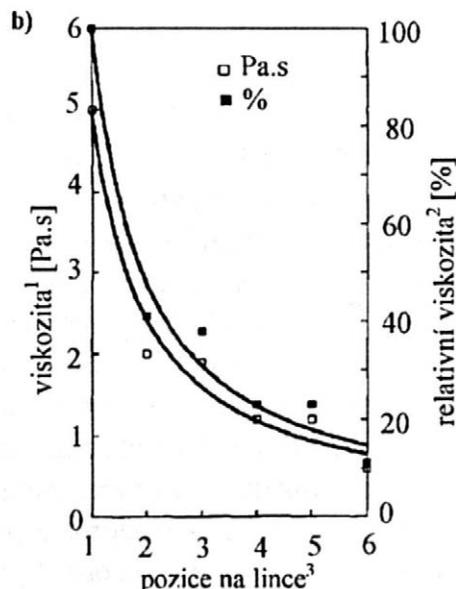
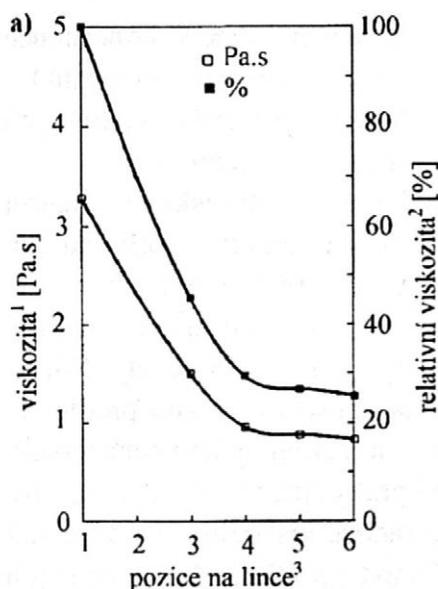
V tab. V jsou uvedeny hodnoty zdánlivých viskozit vzorků odebraných podél linky. Viskozity byly stanoveny po 780 s měření v reometru.

Z těchto údajů je patrné, že dochází k značnému snížení viskozity jogurtů průchodem výrobní linkou (střední hodnota viskozity jogurtu v kelímku činí cca 25 % viskozity rozmíchaného koagulátu). Dále je patrné, že hodnoty viskozity jednotlivých druhů měřených v různé dny vykazují značné rozdíly. Určité rozdíly jsou i ve stupni snížení viskozity vyjádřené procenty. Nárůst viskozity stanovený u jogurtu Grand 2 je však způsoben velkou prodlevou mezi odběrem vzorků a vlastním měřením (v den měření byla vysoká teplota vzduchu v místnosti a vzorky mohly poněkud prokysat). Uvedené závěry lze ověřit i z grafického znázornění průběhu degradace viskozity jogurtů podél linky, které je uvedeno na obr. 4 pro jogurt Grand 1 a Jola 2 (číslování je jen pro rozlišení výrobní partie). U jogurtu Grand se degradace zastavila u zařízení č. 4 (za odstředivým čerpadlem), u jogurtu Jola dochází i dále k poklesu viskozity (u jogurtu Jola 2 na extrémní hodnotu 11 % z původní viskozity rozmíchaného koagulátu).

V. Výsledky měření viskozity jogurtu podél linky – The results of yoghurt viscosity measurements throughout the production line

Místo ¹	Vzorek číslo ²	Grand 1		Grand 2		Jola 1		Jola 2	
		μ [Pa.s]	[%]						
Koagulát ³	1	3,3	100	5,4	100	4,5	100	5,0	100
Za vřetenovým čerpadlem ⁴	2	–	–	2,7	49	–	–	2,0	41
Za chladičem ⁵	3	1,5	45	2,5	46	1,4	31	1,9	38
Za odstředivým čerpadlem ⁶	4	1,0	29	1,5	28	1,0	23	1,2	23
Stáček tank ⁷	5	0,9	27	1,7	31	0,8	18	1,2	23
Kelímeček ⁸	6	0,8	25	2,0	37	1,1	24	0,6	11

¹place; ²sample no.; ³coagulate; ⁴after screw pump; ⁵after cooler; ⁶after impeller pump; ⁷filling tank; ⁸pot



¹viscosity; ²relative viscosity; ³position on line

4. Snižování viskozity (a = jogurt Grand bílý, b = jogurt Jola bílý) – rovnovážný stav při smykové rychlosti $13,7 \text{ s}^{-1}$ – Decrease in viscosity (a = Grand bílý yoghurt, b = Jola bílý yoghurt) – equilibrium state at a shear speed of $13,7 \text{ s}^{-1}$

Výsledky měření regenerace viskozity jogurtů při skladování jsou uvedeny v tab. VI. Zde jsou uvedeny zdánlivé viskozity jogurtů stanovené při smykové rychlosti $13,7 \text{ s}^{-1}$ za 780 s od počátku měření (přibližně rovnovážný stav – viskozita již klesá nepatrně).

VI. Stanovení regenerace zdánlivé viskozity jogurtů v průběhu skladování – Determination of regeneration of apparent yogurt viscosity during storage

Č. měření ¹	Doba regenerace (dny) ²	Grand		Jola	
		μ [Pa.s]	[%]	μ [Pa.s]	[%]
1	0	0,84	25,4	1,11	24,5
	2	2,78	84,6	1,71	37,7
	6	3,01	91,7	1,76	38,8
	20	3,61	110,0	2,33	51,5
	koagulát ³	3,28	100,0	4,53	100,0
2	0	2,02	37,1	0,55	11,0
	2	2,42	44,5	0,85	17,0
	6	4,31	79,3	1,01	20,2
	17	–	–	1,28	^{*)} 25,5
	koagulát	5,44	100,0	5,02	100,0

^{*)}pH = 3,93

¹measurement no.; ²time of regeneration (days); ³coagulate

Z tabulky vyplývá, že u jogurtů se v průběhu skladování jejich viskozita zvyšuje. Až na výjimku již nikdy nedosáhnou původní viskozity rozmíchaného koagulátu. Lépe jsou na tom jogurty Grand (smetanové), které dosahují opakovaně vyšších relativních viskozit než jogurty Jola (méně tučné). U jogurtů Grand je nárůst největší v prvních dvou dnech od stáčení, u jogurtů Jola je nárůst mnohem pomalejší. Tyto poznatky jsou patrné i z obr. 5, v němž jsou uvedeny průběhy regenerace jogurtů zahrnutých do experimentů v grafické podobě.

V tab. VII jsou uvedeny zdánlivé viskozity předem ručně rozmíchaného koagulátu (30 promíchání polévkovou lžicí za 30 sekund) stanovené při smykové rychlosti $13,7 \text{ s}^{-1}$ na počátku měření (μ_0 – vrchol) a za dobu měření 780 s (μ_{780}). Za tuto dobu se viskozita jogurtu při daných otáčkách a smykové rychlosti ustálí.

Tato data byla zpracována vícenásobnou lineární korelací a získaný vztah pro počáteční viskozitu má tvar:

$$\mu_0 = -17,664 + 0,167 x_d - 0,188 x_f + 4,719 \text{ pH} \quad [4]$$

korelační koeficient $r^2 = 0,858$, standardní odchylka $s_f = 0,294 \text{ Pa.s}$

Pro rovnovážnou viskozitu byl získán vztah:

$$\mu_{780} = -0,889 + 0,1442 x_d - 0,071 x_f + 0,090 \text{ pH} \quad [5]$$

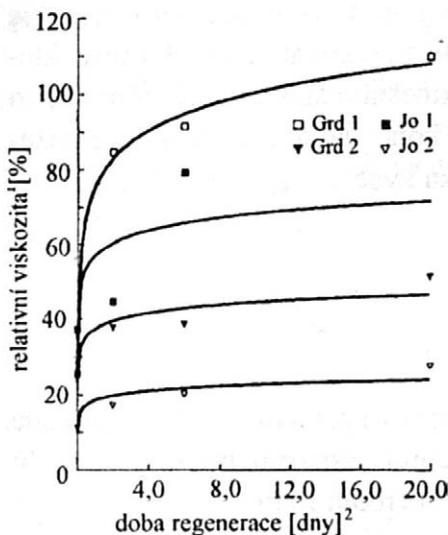
korelační koeficient $r^2 = 0,829$, standardní odchylka $s_f = 0,11 \text{ Pa.s}$ (Vztahy platí pro teplotu $20 \text{ }^\circ\text{C}$ a smykovou rychlost $13,7 \text{ s}^{-1}$)

Z předložených vztahů vyplývá, že s rostoucím obsahem sušiny viskozita jogurtu roste a s rostoucím obsahem tuku viskozita klesá. Čím je hodnota pH vyšší (nižší kyselost), tím je viskozita jogurtu vyšší. Závislost na pH není však zcela statisticky průkazná. Uvedené vztahy platí jen v rozsahu proměnných, tak jak jsou uvedeny v tab. VII. Porovnání naměřených viskozit (tab. VII) s hodnotami vypočtenými ze vztahů [4] a [5] pro totéž složení a hodnotu pH je provedeno v obr. 6, odkud je patrná velmi dobrá shoda odpovídajících dvojic údajů.

VII. Vliv složení na zdánlivou viskozitu jogurtu (smyková rychlost $13,7 \text{ s}^{-1}$), pokus 2 - The effect of composition on yoghurt apparent viscosity (shear speed 13.7 s), trial 2

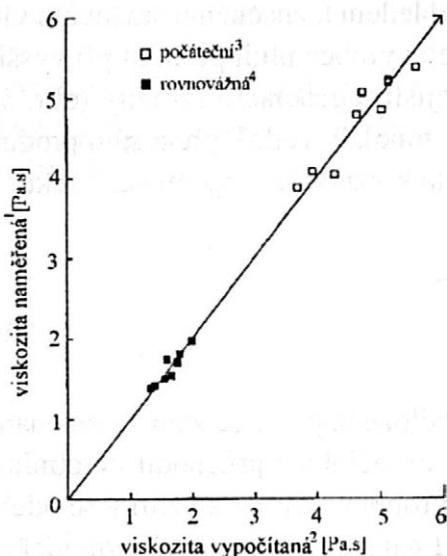
Č. měření ¹	Sušina ² [%]	Tuk ³ [%]	pH [-]	μ_0 [Pa.s]	μ_{780} [Pa.s]
1	17,70	8,11	4,30	3,70	1,32
2	17,13	5,78	4,22	4,29	1,67
3	17,05	2,98	4,33	4,74	1,58
4	16,98	3,60	4,38	5,14	1,76
5	16,89	1,55	4,22	4,65	1,80
6	14,95	3,09	4,20	3,94	1,39
7	15,55	3,32	4,31	5,03	1,55
8	17,30	3,90	4,39	5,15	1,76
9	18,77	3,34	4,35	5,59	1,99

¹measurement no.; ²dry matter; ³fat



¹relative viscosity; ²time of regeneration (days)

5. Regenerace viskozity jogurtu (rovnovážný stav při smykové rychlosti $13,7 \text{ s}^{-1}$) – Regeneration of yoghurt viscosity (equilibrium state at a shear rate of $13,7 \text{ s}^{-1}$)



¹viscosity measured; ²viscosity calculated; ³initial; ⁴balanced

6. Porovnání naměřených a vypočtených viskozit modelově připravených jogurtů – Comparison of recorded and calculated viscosities of yoghurts prepared by model technology

Příklad využití získaných výsledků

Získané výsledky lze využít při porovnání rovnovážných viskozit jogurtů stanovených při standardních podmínkách ($20 \text{ }^\circ\text{C}$ a smyková rychlost $13,7 \text{ s}^{-1}$).

V tab. VII jsou uvedeny rovnovážné viskozity jogurtů stanovené po 780 s měření vzorků odebraných z různých míst výrobní linky. Kdybychom tuto linku upravili tak, aby se produkt z chladiče přímo plnil do kelímků, došlo by ke zvýšení průměrných hodnot (průměr všech čtyř měřených jogurtů) viskozity ze 24 % na 40 % původní hodnoty viskozity koagulátu, tj. o 16 %. Ze vztahu [5] si určíme pro střední složení jogurtu $x_d = 17 \%$, $x_f = 4,5 \%$ a pro $\text{pH} = 4,30$ hodnotu viskozity $\mu_{780} = 1,63 \text{ Pa.s}$. Budeme-li chtít tuto viskozitu zvýšit o 16 %, tj. na hodnotu $1,89 \text{ Pa.s}$ (nahradit tak konstrukční změnu linky technologickým opatřením), musíme zvýšit sušinu produktu ze 17 % na 18,8 %, tj. o celých 1,8 %. Toto množství sušiny představuje při velkovýrobě jogurtu značné množství provozních nákladů, které by bylo možné ušetřit jiným uspořádáním výrobního zařízení.

Vzhledem k značnému snižování viskozity jogurtů ve výrobním zařízení je nucen výrobce plnit produkt při vyšší teplotě a používat takové kultury, které zajistí regeneraci viskozity (obr. 5). Při dnešním stavu distribuční sítě to však mnohdy vede k překysání produktu ke konci záruční doby a pro konzumenta k vzniku nepříjemných efektů (vysoká kyselost, synereze apod.).

Závěry

Předložená práce se zabývá změnami viskozity potraviny, v tomto případě jogurtu, účinkem průchodu výrobním zařízením. Experimenty se prováděly ve výrobním závodě a vzorky se odebíraly z výrobní linky.

Byl nalezen nový model reologického chování jogurtů jako tixotropní kapaliny se dvěma strukturálními parametry a velmi dlouhou dobou regenerace.

K měření bylo použito čtyřlopatkové míchadlo, dovolující šetrně sestavit měřicí aparaturu a vyvarovat se degradace struktury jogurtu před zahájením vlastního měření.

Byl analyzován průběh smykové rychlosti a doby zdržení v jednotlivých aparátech výrobní linky a integrací reologického modelu byly stanoveny průběhy strukturálních parametrů dvou druhů typických produktů (opakovaně).

Stejnou metodikou jako byly stanoveny reologické vlastnosti koagulátu byly měřeny reologické vlastnosti jogurtů (stejných šarží jako koagulát) na vzorcích odebraných při výrobě z různých míst linky. Ukázalo se, že rovnovážné hodnoty viskozity klesají až na 11 % původních hodnot naměřených na koagulátu.

Při měření regenerace viskozity jogurtů se zjistilo, že jogurt typu Grand zregeneruje svoji viskozitu za 6 dnů skladování cca na 85 % rovnovážné viskozity koagulátu. Jogurt typu Jola regeneroval podstatně méně (na konci záruční doby cca 25–50 % rovnovážné viskozity koagulátu).

Měření na laboratorně připravených jogurtech s cíleně proměnným složením (různý obsah sušiny a tuku, pH) se stanovily počáteční a rovnovážné viskozity koagulátu. Na základě experimentálních dat byly stanoveny lineární korelace, které umožňují odhadnout změny viskozity jogurtů při změně složení.

Využití těchto korelací bylo ukázáno na jednoduchém příkladě, z něhož plyne, že lze i na krémovitém jogurtu docílit značných úspor surovin, jestliže je zvolená výrobní technologie k produktu šetrná.

Poděkování

Autoři práce děkují všem pracovníkům výrobního závodu Pragolaktos a.s., kteří dali souhlas k provádění experimentů, poskytli výborné podmínky k práci i přispěli vlastní nezištnou prací k doplnění údajů uvedených v tomto článku.

Seznam použitých symbolů

D	průměr míchadla [m]
H	výška míchadla [m]
τ	střední smykové napětí [Pa]
T	kroučící moment [N.m]
N	frekvence otáčení [s^{-1}]
Γ	smyková rychlost [s^{-1}]
τ_y	mez toku (rychlejší rozpad) [Pa]
K^y	koeficient konzistence (pomalejší rozpad) [$Pa \cdot s^n$]
$b_{1,2}$	časové konstanty rozpadu [s^{m-1}]
$m_{1,2}$	exponenty (ovlivňují citlivost rychlosti rozpadu na smykovou rychlost) [–]
n	index toku [–]
μ	viskozita [$Pa \cdot s$]
τ	smykové napětí [Pa]
κ_1	strukturní parametr labilní gelovité struktury [–]
κ_2	strukturní parametr trvanlivější viskozní struktury [–]
x_d	obsah sušiny [%]
x_f	obsah tuku [%]
μ_0	počáteční zdánlivá viskozita [$Pa \cdot s$]
μ_{780}	rovnovážná viskozita (pro čas měření 780 s) [$Pa \cdot s$]
r	korelační koeficient [–]
s_f	standardní odchylka [$Pa \cdot s$]
t	čas [s]

Literatura

- BENEZECH, T. – MAINGONNAT, J. F.: Characterization of the rheological properties of yoghurt – A review. *J. Food Engng*, 21, 1994: 447–472.
- CASTELL-PEREZ, E. – STEFFE, J. F. – MOREIRA, R. G.: Simple determination of power law flow curves using a paddle type mixer viscometer. *J. Texture Stud.*, 22, 1991: 303–316.
- HOUSKA, M. – ŽITNÝ, R. – ŠESTÁK, J.: Variation of rheological properties of liquid foodstuffs in processing. 4th Europ. Rheol. Conf., Sevilla 4-9 September, 1994.
- RAO, M. A. – COOLEY, H. J.: Determination of effective shear rates in rotational viscometers with complex geometries. *J. Texture Stud.*, 15, 1984: 327–335.

STEVENTON, A. J. – PARKINSON, C. J. – FRYER, P. J. – BOTTOMLEY, R. C.:
The Rheology of Yogurt. In: CARTER, R.E. (Ed.): Rheology of Food, Pharma-
ceutical and Biological Materials with General Rheology. London and New York,
Elsevier App. Sci. 1990,

Došlo 20. 3. 1995

Kontaktní adresa:

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

PŘEHLEDY

PŘEHLED A CHARAKTERISTIKA PUBLIKOVANÝCH MODELŮ MIKROVLNNÉHO OHŘEVU POTRAVIN*

Jiřina HOUŠOVÁ

Výzkumný ústav potravinářský Praha, Praha, Česká republika

Matematické modelování se stává stále používanějším prostředkem pro předpověď vývoje zpracovatelských procesů i pro optimalizaci jejich parametrů a parametrů výrobků. Matematický model procesu umožňuje předvídat vývoj relevantních veličin a sledovat jejich vliv na proces bez složité technické aparatury a v relativně krátkém čase s nepoměrně menšími finančními náklady.

Mikrovlnný (MV) ohřev potravinářských materiálů a výrobků je velmi složitý přenosový děj, skládající se jak z vlastní generace tepla uvnitř materiálu transformací energie mikrovln, tak z klasického transportu tepla a případně i hmoty v materiálu. Celý proces je pak dále komplikován složitými okrajovými podmínkami (dochází ke sdílení tepla s okolím volnou i nucenou konvekcí, k odparu vlhkosti na volném povrchu materiálu), ohřev komplikuje nehomogenita materiálu i jeho geometrický tvar a nehomogenita mikrovlnného pole.

První pokusy o předpověď rozložení vývoje lokálních teplot v potravinářských materiálech podrobených MV ohřevu jsou ze 70. let (Ohlsson, Bengtsson, 1971; Kirk, Holmes, 1975; Nykvist, Decareau, 1976). S postupujícími poznatky o charakteristikách MV zařízení, o interakci mikrovln a potravinářských materiálů, o dielektrických vlastnostech potravin i s využitím výpočetní techniky se matematické modely MV ohřevu postupně vyvíjejí a umožňují předpověď průběhu i složitějších případů MV ohřevu.

Matematická simulace MV ohřevu potravinářských materiálů – teoretická východiska

Většina prací věnovaných predikci vývoje teplot při MV ohřevu potravin vychází z numerického řešení diferenciální rovnice pro nestacionární vedení tepla s vnitřním zdrojem tepla (objemová generace tepla v důsledku transformace energie absorbovaných mikrovln). Ta má pro případ nestlačitelných materiálů tuhé konzistence tvar:

$$\rho c_p \frac{\delta T}{\delta t} = \nabla (\lambda \nabla T) + Q \quad [1]$$

*Práce byla provedena s podporou projektu GA ČR Modelování tepelného zpracování potravin č. 510/93/0805 a projektu EU PECO Modelling of thermal properties and behaviour of foods.

kde: Q – vydatnost objemového zdroje tepla v jednotce času
 λ, ρ, c_p – tepelně-fyzikální vlastnosti ohříváné látky
 T – teplota
 t – čas

V případě ohřevu tekutin je uvedená rovnice [1] doplněna o člen vyjadřující transport tepla v důsledku samovolné konvekce:

$$\sigma c_p \vec{u} \nabla T \quad [2]$$

kde \vec{u} – rychlost samovolného proudění tekutiny

Konvektivní výměna tepla mezi zahřátým materiálem a okolím a energetické ztráty při odpařování z volného povrchu jsou zahrnovány do okrajových podmínek řešení.

Numerické řešení vzniklé soustavy rovnic vyžaduje především časová a prostorová proměnlivost vnitřního zdroje tepla, případně geometrický tvar materiálu. Analytické řešení je ojedinělé (Dolande, Datta, 1993; Ayappa, Davis, 1991), podobně jako řešení pomocí rozměrové analýzy (Komolprasert, Ofoli, 1989).

Tepelně fyzikální a dielektrické vlastnosti ohříváné látky jsou při řešení uvažovány buď jako funkce teploty a chemického složení materiálu, nebo při nedostatku vztahů, údajů, či pro komplikovanost řešení jako konstanta pro určité rozmezí teplot a materiál (platí zejména pro dielektrické vlastnosti).

Problémem řešení je formulace zdrojového členu v rovnici [1], tj. rychlosti objemové generace tepla v důsledku absorpce mikrovln v jednotlivých místech materiálu.

Objemovou generaci tepla, resp. objemovou absorpci mikrovln obecně popisuje vztah:

$$Q = \pi f \epsilon_0 k'' E^2 \quad [\text{W} \cdot \text{m}^{-3}] \quad [3]$$

kde: f – frekvence mikrovln
 ϵ_0 – permitivita vakua [$8,854 \cdot 10^{-14}$ farad.cm⁻¹]
 k'' – relativní ztrátová konstanta materiálu [bezrozměrná]
 E – gradient napětí elektrického pole v materiálu [$\text{V} \cdot \text{cm}^{-1}$]

V řadě publikovaných prací lze nalézt poněkud pozměněný vztah (např. Datta, 1990; Datta et al, 1992 – relativní ztrátová konstanta je nahrazena ztrátovým faktorem ϵ''). Vztah byl odvozen z Maxwellových rovnic pro elektromagnetické vlny za předpokladu zanedbání magnetických ztrát v potravinářských materiálech.

Dielektrické ztráty materiálu jsou více či méně závislé na teplotě a proto se lokálně mění i v průběhu ohřevu. Gradient napětí elektrického pole, které se v materiálu vytvoří po vložení do mikrovlnného (elektromagnetického) pole, je místně proměnlivý a jak uvádí Mudgett (1985), nelze jej a priori stanovit.

Exaktní postup pro stanovení lokálních hodnot intenzity pole mikrovln vyžaduje řešení komplexních Maxwellových rovnic pro šíření elektromagnetických vln v MV dutině za přítomnosti dielektrika. Toto řešení je numericky extrémně náročné (Data et al., 1992) a výpočet lze v podstatě provést pro nejjednodušší situace. Tento postup se objevuje v některých pracích z posledních let (Fu, Metaxas, 1994; Ohlsson, 1993; Ohlsson, Risman, 1993; Ayappa, Davis, 1991).

Většina matematických simulací MV ohřevu vychází z představy exponenciálního poklesu intenzity elektrického pole, které se vytvoří v materiálu (dielektriku) po vložení do pole mikrovln a následně z exponenciálního poklesu rychlosti objemové generace tepla ve směru šíření mikrovln.

Tento pokles popisuje Lambertův zákon (Hippel, 1954). Pro šíření mikrovln v x -ovém směru má tvar:

$$Q_x = Q_0 \cdot e^{-2\alpha x} \quad [4]$$

kde: x – vzdálenost od povrchu materiálu (od místa dopadu mikrovln)
 Q_x, Q_0 – rychlosti objemové generace tepla v místě x a v místě dopadu mikrovln
 α – atenuační konstanta závislá na vlnové délce mikrovln a dielektrické konstantě a dielektrických ztrátách materiálu (Hippel, 1954; Mudgett, 1985; Ayappa et al., 1991)

$$\alpha = \frac{2\pi f}{2} \sqrt{\frac{k'}{2} \left(\sqrt{1 + \left(\frac{s''}{s'}\right)^2} - 1 \right)} \quad [5]$$

kde: f – frekvence mikrovln
 c – rychlost světla
 k' – relativní dielektrická konstanta (ϵ'/ϵ_0)
 ϵ', ϵ'' – dielektrická konstanta a dielektrický ztrátový faktor materiálu

Přestože Lambertův zákon platí striktně pro rovinnou vlnu dopadající na rovný povrch tělesa nekonečné tloušťky je pro svou jednoduchost používán i pro nerovinné geometrie (válec, koule) a pro materiály konečné tloušťky (Mudgett, 1985; Data, 1990; Chen et al., 1993; Padua, 1994).

Jak uvádějí Ayappa a Davis (1991), lze Lambertův zákon použít pro materiál ve tvaru vrstvy konečných rozměrů v případě, že jeho rozměr ve směru šíření mikrovln převyšuje tzv. kritický rozměr L_{krit} . Pro rovinnou vrstvu s jednostranným dopadem mikrovln uvádí pro kritický rozměr vztah:

$$L_{krit} = 2,7 \cdot D_p - 0,08 \quad [6]$$

kde D_p – penetrační hloubka v cm

Mezi penetrační hloubkou D_p a atenuační konstantou platí vztah:

$$D_p = \frac{1}{\alpha} \quad [7]$$

Problém prostorově závislé objemové generace tepla se při použití Lambertova zákona redukuje na problém stanovení hodnoty energie, resp. výkonu mikrovln na povrchu materiálu (incidenční hodnoty), resp. při použití vztahu [3] na stanovení gradientu napětí elektrického pole v materiálu E .

Vzhledem k tomu, že ani výkon mikrovln v místě dopadu na materiál, ani gradient napětí elektrického pole v materiálu nelze dosud jednoduše stanovit (i když speciální senzor pro tento účel se již objevil v poslední nabídce firmy LUXTRON, USA, jeho cena však z něj činí výlučné vybavení), vychází se pro jejich zjištění z experimentů. Pro tento účel je jednotlivými autory používána: hodnota kalorimetricky zjištěného výkonu magnetronu podle mezinárodní normy (IEC 705) při ohřevu jednoho litru vody za určitých podmínek, opravená případně na aktuální obsah vlhkosti materiálu, jehož ohřev je predikován (Lin et al., 1995), případně kalorimetricky zjištěná hodnota MV výkonu pro hmotnost vody, adekvátní hmotnosti vzorku materiálu, nebo se vychází ze změny střední teploty vzorku materiálu odvozené z experimentálně zjištěného vývoje lokálních teplot materiálu v první fázi ohřevu, kdy lze vnitřní vedení tepla, případnou fázovou přeměnu vlhkosti v materiálu i vnější ztráty konvekcí zanedbat a kdy lze předpokládat zvyšování teplot pouze účinkem mikrovln (Ofofi, Komolprasert, 1988; Tong, Lung, 1993; Datta, 1990; Dolande, Datta, 1993).

Vlastní numerické řešení energetické rovnice, případně rovnic popisujících souběžný přenos tepla a hmoty při MV ohřevu je založeno buď na metodě konečných diferencí (většina dosud publikovaných prací), nebo na metodě konečných elementů (Chen et al., 1993; Lin et al., 1995), která umožňuje řešit i složitější geometrie.

Řada dalších individuálních předpokladů a zjednodušení se vyskytuje při numerické simulaci MV ohřevu jednotlivými autory. Tyto předpoklady ovlivňují platnost řešení i použitelnost modelu pro platnost realizace, jsou však odrazem složitosti děje i úrovně jeho poznání. Platnost matematické simulace procesu ovlivňuje i přesnost experimentů, s nimiž je výpočet srovnáván, resp. z nichž jsou dílčí data pro výpočet použita.

Stručná charakteristika modelových řešení MV ohřevu potravinářských materiálů jednotlivými autory

Ohlsson a Bengtsson (1971) odvodili za pomoci techniky konečných diferencí teplotní profily a jejich časový vývoj pro materiály v podobě nekonečné desky při jednorozměrné mikrovlnné radiaci a výpočet kontrolovali s experimentem ohřevu bloků masa o tloušťce 30 mm. Modelové řešení ukázalo na významný vliv tepelné vodivosti materiálu a koeficientu přestupu tepla do okolí.

Kirk a Holmes (1975) predikovali teplotní profil a jeho vývoj při jednorozměrném ohřevu substancí s vysokým obsahem vlhkosti. Při výpočtu použili opět techniku konečných diferencí. Predikované teploty porovnávali s teplotami naměřenými při MV ohřevu gelu z agaru a vody.

Nykvist a Decareau (1976) použili metodu konečných diferencí pro jednorozměrný model MV ohřevu válce a výsledky porovnávali s experimentálně zjištěnými hodnotami při ohřevu hovězí pečeně válcového tvaru.

Swami a Mudgett (1981) počítali rozložení a vývoj lokálních teplot při MV ohřevu agaru ve tvaru koule o poloměru 5, resp. 10 cm. Rovnici pro přenos tepla řešili jako jednorozměrnou úlohu, numerický výpočet prováděli při použití metody konečných diferencí.

Swami (1982) provedl počítačovou simulaci MV ohřevu agarového gelu s vysokým obsahem vlhkosti a různou koncentrací NaCl. Řešení bylo provedeno jako dvojrozměrná, resp. trojrozměrná úloha pomocí metody konečných diferencí pro úhel dopadu mikrovln na povrch materiálu 90 a 45 stupňů. Bylo uvažováno povrchové odpařování vlhkosti a energetické ztráty konvekcí do okolí a exponenciální pokles absorbce mikrovln podle Lambertova zákona. Model umožňuje predikovat vliv NaCl na rozložení teplot materiálu při ohřevu i tzv. focussing efekt pro ohřev materiálu válcové geometrie v závislosti na vlastnostech materiálu a jeho rozměrech.

Mudgett (1985) shrnuje postup při tvorbě matematického modelu MV ohřevu potravinářských materiálů tuhé konzistence s vysokým obsahem vlhkosti ve tvaru koule a válce konečných rozměrů. Rozebírá úlohu okrajových podmínek pro řešení diferenciální rovnice [1] včetně využití energie MV pole pro vlastní ohřev (tzv. coupling efekt, závisící na poměru objemu dutiny a materiálu), při řešení uvažuje částečný odraz mikrovln při dopadu na povrch materiálu (podíl odraženého a procházejícího záření se řídí rozdílem impedancí vakua a materiálu) a Lambertův zákon pro vyjádření exponenciálního poklesu intenzity pole v materiálu. Numerické řešení zakládá na metodě konečných diferencí.

Ofoli a Komolprasert (1988) odvodili matematický model MV ohřevu za předpokladu zanedbatelného vlivu vyrovnávání teplot v materiálu vedením. Vzrůst teplot, predikovaný tímto modelem, je čistě funkcí intenzity elektrického pole v materiálu a času. Je navržen způsob experimentálního určení napětí elektrického pole v materiálu v závislosti na čase a lokální teplotě. Platnost numerického řešení byla ověřována experimenty s ohřevem různě koncentrovaných roztoků rýžového a kukuřičného škrobu ve skleněné nádobě válcového tvaru. Autoři uvádějí dobrou shodu pro vyšší koncentrace škrobu, menší přesnost výpočtu pro malé koncentrace.

Bows a Clark (1990) odvodili model pro predikci vývoje teplot při MV ohřevu potravinářského materiálu válcového tvaru. Použili techniku konečných diferencí pro numerické řešení diferenciální rovnice (1), dále Lambertův zákon exponenciálního poklesu generace tepla při průchodu mikrovln materiálem. Předpokládali osovou i středovou symetrii ohřevu a nelineární závislost penetrační hloubky materiálu

D_p na teplotě, danou tabulkou. Model umožňuje volbu úhlu dopadu na povrch v radiálním směru. Na příkladu uvádějí dobrou shodu při ohřevu hovězího masa.

Burfoot (1992) v rámci přehledu prací věnovaných modelování procesů zpracování masa shrnuje a charakterizuje matematické modely mikrovlnného ohřevu potravin, použitelné pro predikci průběhu mikrovlnného ohřevu masa. Konstatuje, že jednoduché modely vykazují při porovnání s experimenty více či méně uspokojivou přesnost, mnohem komplikovanější modely z posledních let, s vyšší přesností predikace průběhu ohřevu, jsou velmi náročné na tvorbu i testování.

Datta et al. (1992) řešili model pro predikci rozložení a vývoje teplot při MV ohřevu tekutin v nádobě válcového tvaru. Použili techniku konečných diferencí pro numerické řešení diferenciální rovnice [1] obsahující i člen samovolné vnitřní konvekce [2], dále Lambertův zákon exponenciálního poklesu generace tepla při průchodu mikrovln materiálem, předpokládali osovou symetrii ohřevu, nulový tepelný tok na celém povrchu válce a lineární závislost penetrační hloubky materiálu D_p na teplotě. Hodnotu výkonu v místě dopadu mikrovln odvodili od vzrůstu střední teploty vzorků materiálu, zjištěného experimentálně (měření průběhu teplot v řadě míst vzorků). Model neumožňuje predikci „focussing“ efektu. Autoři uvádějí dobrou shodu predikovaných teplot s experimentem, předpokládaná samovolná konvekce tekutiny při ohřevu byla ověřena vizualizací.

Padua (1993) publikuje vývoj zjednodušeného matematického modelu pro předpověď teplotních profilů při MV ohřevu agarového gelu válcového tvaru s různým obsahem sacharózy. Model je řešen jako jednorozměrný pro mikrovlnnou radiaci pouze v radiálním směru a umožňuje predikovat vliv obsahu sacharózy na rozložení lokálních teplot vzorků při ohřevu. Srovnání s experimentem je uvedeno.

Tong (1988) a Tong a Lund (1993) publikují výsledky počítačové simulace vývoje teplot a obsahu vlhkosti ve výrobcích z těsta jednoduché geometrie (nekonečná deska) při jednostranném mikrovlnném ohřevu. Je použito techniky konečných diferencí, řešení jednorozměrné úlohy je provedeno jak pro kontinuální expozici mikrovln, tak pro přerušovaný ohřev (on-off). Autoři uvádějí dobrou shodu vypočtených a experimentálně zjištěných teplot a menší přesnost výpočtu středního obsahu vlhkosti během ohřevu.

Chen et al. (1993) použili techniku konečných elementů pro analýzu rozložení teplot v materiálu válcového tvaru při MV ohřevu. Byl uvažován MV ohřev v radiálním i axiálním směru, nelineární generace tepla (exponenciální pokles), osová i středová symetrie ohřevu (řešena čtvrtina válce), nestacionární přestup tepla, povrchové ztráty tepla konvekcí a odparem a závislost atenuační konstanty alfa na teplotě. Při dosažení hodnot pro konkrétní materiál a jeho rozměry (brambory, D/L 1, 0, $D = 35$ mm) bylo rozložení teplot dobře predikováno pro ohřev do teploty ve středu vzorku 80 °C. Odchyłka mezi vypočtenými a experimentálními teplotami byla korigována změnou hodnoty dielektrických vlastností (dosazeny hodnoty pro vodu). Nerovnoměrný axiální profil teplot ve válcovém vzorku materiálu je podle autorů

způsoben především odpařováním vody na volném povrchu vzorku, nerovnoměrný radiální profil teplot souvisí se zakřiveným povrchem.

Lin et al. (1995) použili techniku analýzy konečných elementů pro matematický model mikrovlnného ohřevu potravinářských materiálů tuhé konzistence s válcovou a pravoúhlou geometrií. Lokální hodnoty absorbované energie v materiálu odvozují od dielektrických vlastností materiálu při uvažování exponenciálního poklesu absorpce ve směru propagace mikrovln. Model byl ověřen experimenty – ohřev alginátového gelu s obsahem NaCl. Dobrou shodu s experimentem vykazuje výpočet rozložení teplot pro ohřev materiálu hranolovitého tvaru, menší přesnost vykazuje výpočet pro vývoj teplot v ose materiálu válcového tvaru. Provedená analýza citlivosti řešení ukázala na významné parametry modelu pro daný případ MV ohřevu: hodnota incidenčního MV výkonu, dielektrických vlastností a pro určité rozměry i teplotové vodivosti.

Literatura

- AYAPPA, K. G. – DAVIS, H. T. – CRAPISTTE, G. – DAVIS, E. A. – GORDON, J.: Microwave heating: An evaluation of power formulations. *Chemical Engng Sci.*, 46, 1991: 1005–1016.
- BOWS, J. R. – CLARK, P.: Computer simulation of microwave heating of a cylinder of food. Technical Memorandum No. 574, CFDR, 1990.
- DATTA, A. – PROSETYA, H. – HU, W.: Mathematical modeling of batch heating of liquids in a microwave cavity. *J. Microwave Power and Electromagnetic Energy*, 27, 1992.
- DATTA, A. K.: Heat and mass transfer in the microwave processing of food. *Chem. Engng Progr.*, 1990: 47–53.
- DOLANDE, J. – DATTA, A.: Temperature profiles in microwave heating of solids: A systematic study. *J. Microwave Power and Electromagnetic Energy*, 28, 1993: 58–67.
- FU, W. – METAXAS, A.: Numerical prediction of three-dimensional power density distribution in a multi-mode cavity. *J. Microwave Power and Electromagnetic Energy*, 29, 1994: 67–75.
- GRÜNEBERG, H. – PERSCH, Ch. – HUBERT, H.: Calculation of microwave heating. In: *Inter. Conf. Microwave and High Frekvency*. Göteborg, Sweden, 1993.
- CHEN, S. D. – SINGH, R. K. – HAGHIGHI, K. – NELSON, P. E.: Finite element analysis of temperature distribution in microwaved cylindrical potato tissue. *J. Food Engng*, 18, 1993: 351–368.
- KIRK, D. – HOLMES, A. W.: The heating of foodstuffs in a microwave oven. *J. Food Technol.*, 10, 1975: 375–384.
- KOMOLPRASERT, V. – OFOLI, R. Y.: Mathematical modeling of microwave heating by the method of dimensional analysis. *J. Food Processing and Preservation*, 13, 1989: 87–106.
- LIN, Y. E. – ANANTHESWARAN, R. C. – PURI, V. M.: Finite element analysis of microwave heating of solid foods. *J. Food Engng*, 25, 1995: 85–112.
- MUDGETT, R. E.: Electrical properties of food in microwave processing. *Food Technol.*, 1982: 109–115.

- MUDGETT, R. E.: Microwave properties and heating characteristics of foods. *Food Technol.*, 1986, 84–93.
- MUDGETT, R. E.: Modelling microwave heating characteristics. In: DECAREAU, R. V. (Ed.): *Microwaves in the Food Processing Industry*. London, U.K., Academic Press 1985.
- NYKVIST, W. E. – DECAREAU, R. W.: Microwave meat roasting. *J. Microwave Power*, 11, 1976: 3–24.
- OFOLI, R. Y. – KOMOLPRASERT, V.: On the thermal modeling of foods in electromagnetic fields. *J. Food Proces. Preserv.*, 12, 1988: 219–241.
- OHLSSON, T. – BENGTSSON, N. E.: Microwave heating profiles in food. *Microwave Energy Appl. Newsl.*, 4, 1971: 1–8.
- OHLSSON, T. – RISMAN, P. O.: Temperature distribution in microwave oven heating – The influence of different cavity modes. ICFE, Chiba, Japan, 1993.
- OHLSSON, T. – RISMAN, P. O.: Temperature distribution of microwave heating – spheres and cylinders. *J. Microwave Power*, 13, 1978: 303–310.
- OHLSSON, T.: In-flow microwave heating of pumpable foods. In: *Int. Congr. Food and Engng.* Chiba, Japan, May 23–27, 1993.
- PADUA, G. W.: Microwave heating of agar gels containing sucrose. *J. Food Sci.*, 58, 1993: 1426–1428.
- PROSETYA, H. – DATTA, A. K.: Batch microwave heating of liquids – an experimental study. *J. Microwave Power*, 26, 1991: 215–226.
- RISMAN, P. O. – OHLSSON, T. – LINGNERT, H.: Model substances and their use in microwave heating studies. SIK-Rapport, Nr.588, Göteborg, Sweden, 1993.
- SWAMI, S.: Microwave heating characteristics of simulated high moisture foods. [MS thesis.] Amherst, MA, USA, University of Massachusetts 1982.
- TONG, C. H. – LUND, D. B.: Microwave heating of baked dough products with simultaneous heat and moisture transfer. *J. Food Engng.*, 19, 1993: 319–339.
- TONG, C. H.: Microwave heating of baked dough products with simultaneous heat and moisture transfer. [PhD thesis.] Madison, WI, USA, University of Wisconsin 1988.

Mathematical modelling of food microwave heating

Mathematical modelling is generally a very useful and important tool for prediction of the behaviour of material processing with the intention of improving, optimising and understanding the process. Theoretical considerations for development of mathematical models of food microwave heating, methods and conditions for models' solutions and other features of individual models, developed during the last 20 years for prediction of microwave processing of food are given in this review. A list of 26 references is enclosed.

Kontaktní adresa:

Ing. Jiřina Houšová, CSc., Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7,
102 31 Praha 10, Česká republika, tel.: 02/705 907, fax: 02/701 983

POTRAVINÁŘSKÉ VĚDY

FOOD SCIENCES

Volume 13 • 1995

Angelovičová M., Lisá V., Čupka P.: Sledovanie obsahu cholesterolu v žĺtku slepačích vajec počas znáškového cyklu – The study of cholesterol content in egg yolk of hen's eggs during laying cycle	369
Bačo B., Pipek P.: Colour of sausages influenced by non-meat protein addition – Barva masných výrobků po přidavku nemasových bílkovin	247
Bílková K., Králová B.: α -glucosidases from microbial sources – α -glukosidasa z mikrobiálních zdrojů	267
Blahovec J., Jeschke J., Houška M., Paprštejn F.: Mechanical properties sweet and sour cherries determined by compression between two plates – Mechanické vlastnosti třešní a višní určené stlačováním mezi dvěma deskami	425
Dobiáš J., Voldřich M., Čurda D., Pelavas P.: The effect of food heating products on corrosion of cans – Vliv produktů záhřevu na korozi konzerv	103
Doležal M., Velíšek J.: Kinetics of 2-chloro-1,3-propanediol degradation in model systems and in protein hydrolysates – Kinetika degradace 2-chloro-1,3-propandiolu v modelových systémech a v bílkovinných hydrolyzátech	85
Farníková L., Pokorný J., Tirzitis G. D.: Antioxidant activity of 2,6-dimethyl-3,5-bis(menthylxycarbonyl)-1,4-dihydropyridine in edible oils – Antioxidační účinnost 2,6-dimethyl-3,5-bis(menthylxycarbonyl)-1,4-dihydropyridinu (DMDP) v jedlých olejích	225
Grée R., Dostál M., Houška M.: Vakuové chlazení kusovitých potravin – Vacuum cooling of foods in pieces	139
Hajšelová M., Příhoda J., Kalkant P.: A maturation of rye-wheat doughs by sour dough or by baker's yeast – Sledovanie kysnutia rôznych druhov ražno-pšeničných ciest	199
Hoche I., Málková K., Rauch P.: Stanovení salmonel metodou ELISA – Determination of salmonellas by ELISA	299
Holasová M., Velíšek J., Davídek J.: Tocopherol and tocotrienol contents in cereal grains – Obsah tokoferolů a tokotrienolů v obilovinách	409
Houška M., Grée R., Kýhos K., Žitný R., Šesták J.: Změny viskozity jogurtů ve výrobní lince – Changes in yoghurt viscosity in a production line	469
Houšová J., Hoke K.: Microwave heating of heterogeneous food products – heating rate and temperature uniformity – Mikrovlnný ohřev heterogenních potravin, rychlost a rovnoměrnost ohřevu	111

Hozová B., Greifová M.: Aplikácia modifikovanej metódy membránovej filtrácie pri mikrobiologickej kontrole v konzervárenskom priemysle – Application of a modified method of membrane filtration to microbiological control in the canning industry	337
Hozová B., Greifová M., Görner F., Zemanovič J.: Porovnanie citlivosti diskovej difúznej metódy, INTESTU a Delvotestu P pri stanovení reziduí antibiotík v mlieku – Comparison of sensitivity of disk diffusion method, INTEST and Delvotest P at determination of antibiotic residues in milk	131
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
Hurtová S., Schmidt Š., Zemanovič J., Sekretár S.: Interesterifikácia tukových zmesí s alkalickými katalyzátormi – Interesterification of fat blends with alkali catalysts	25
Chudobová I., Vrbová E., Kodíček M., Janovcová J.: Determination of D-glucose in soft drinks using optical biosensor – Použití optického biosenzoru pro stanovení D-glukosy v nealkoholických nápojích	189
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
Kassahun B. W., Velíšek 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
Kassahun B. W., Velíšek J., Davídek J.: Glucosinolates in cooked cabbage (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i>) – Glukosinolát ve vařeném zelí	93
Kmínková M., Moučka Z., Kučera J.: Detekce některých enzymů v hepatopankreatu kapra – Detection of enzymes in hepatopancreas of carp (<i>Cyprinus carpio</i>)	461
Kmínková M., Moučka Z., Kučera J.: Extraction of digestive enzymes from viscera of carp – Extrakce digestivních enzymů z vnitřnosti kapra	419
Koreňovská M., Poláčeková O.: Distribúcia ortuti v mlieku – Distribution of mercury in milk	313
Melzoch K., Hajšlová J., Šitner V.: Occurrence and risk assessment of ethyl carbamate in alcoholic beverages – Výskyt a zhodnocení zdravotního rizika ("risk assessment") ethyl karbamátu v alkoholických nápojích	169

Moravcová J., Filip V., Křístková K., Kubelka V., Jedináková V.: The fatty acid composition in <i>Hippophae rhamnoides</i> L. oils – Složení mastných kyselin v olejích rostliny <i>Hippophae rhamnoides</i> L.	287
Novotná D., Příhoda J., Brožová K.: Quality characters of wheat flour granulation fractions – Kvalitativní charakteristiky frakcí pšeničné mouky	213
Palo V., Jančík M., Jančková J.: GLC spektrum laskoprchavých látek fermentovej srvátky – GLC spectrum of readily volatile substances of fermented whey	347
Plocková M., Chumchalová J., Husáková J., Šviráková E.: Agar diffusion assay for nisin quantification using <i>Bacillus stearotherophilus</i> as an indicator organism – Kvantitativní stanovení nisinu agarovou difúzní metodou za použití indikátorového kmene <i>Bacillus stearotherophilus</i>	279
Pokorný J., Kalinová L., Velíšek J.: Time-intensity bitterness evaluation of bitter liqueurs – Časová závislost při stanovení intenzity hořkosti hořkého likéru	257
Ruml T., Šilhánková L., Brunerová M.: Purification of thiaminase I for analytical purposes – Purifikace thiaminasy I pro analytické použití . . .	181
Staruch L., Barteková Z., Uherová R.: Celiatická múka a celiatická cestovina vo výžive – Celiac flour and pasta in nutrition	391
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
Valík E., Görner F., Zemanovič J.: Vplyv aktivity vody na rast a produk- ciu kyselin syrársky relevantných baktérií mliečného kysnutia – The effect of water activity on the growth and metabolism of cheese-making bacteria of lactic fermentation	355
Velíšek J., Davídek J., Holasová M., Mňuková J., Petr J.: Obsah některých vitaminů v pšenici a ječmeni pěstovaných ekologickým způso- bem – Content of some vitamins in wheat and barley from organic farming	437
Velíšek J., Mikulcová R., Míková K., Kassahun B. W., Link J., Davídek J.: Chemometric investigation of mustard seed – Chemometric- ké hodnocení hořčičných semen	1
Veselý Z., Boháčeno I.: Imunoafinitní extrakce aflatoxinů a jejich stano- vení metodou HPLC v surovinách, potravinách a krmivech – Immunoaffi- nity extraction of aflatoxins and their HPLC determination in raw materials, foods and feeds	451
Voldřich M., Dobiáš J., Čurda D.: Head space stanovení acetaldehydu v PET preformách a lahvích používaných v České republice – Head space GC determination of acetaldehyde in PET preforms and bottles used in the Czech Republic	49

Voldřich M., Kvasnička F., Marek M., Vrbová E.: A biosensor for rapid determination of flatulence causing oligosaccharides in pea – Biosenzor pro rychlé stanovení flatulentních oligosacharidů hrachu	237
--	-----

PŘEHLEDY – REVIEWS

Houšová J.: Přehled a charakteristika publikovaných modelů mikrovlnného ohřevu potravin – Mathematical modelling of food microwave heating .	485
Marek M., Voldřich M., Čurda D., Kopečný J.: Příprava a použití esterů mastných kyselin se sacharosou – Preparation and use of sucrose fatty acid esters	321
Pokorný J., Réblová Z.: Sinapines and other phenolics of Brassicaceae seeds – Sinapiny a jiné fenolické látky v semenech čeledi Brassicaceae .	155
Voldřich M.: Přirozený obsah konzervačních látek v potravinářských výrobcích – Natural content of chemical preservatives in food products	403

KRÁTKÁ SDĚLENÍ – SHORT COMMUNICATION

Špička J., Helclová Z.: Využití dialýzy při izotachoforetickém stanovení kyselin benzoové a sorbové – Application of dialysis for an isotachophoretic determination of benzoic acid and sorbic acid	399
---	-----

Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

Prugar J.: Konference o cizorodých látkách na Slovensku	298
---	-----

ŽIVOTNÍ JUBILEA

Prugar J.: Životní jubileum Ing. Alexandra Szokolaye, DrSc.	335
Voldřich M.: K významnému životnímu jubileu prof. ing. dr. Vladimíra Kyzlinka, DrSc., Dr.h.c.	83

NEKROLOG

Davídek J.: Zemřel prof. ing. dr. Gustav Janíček, DrSc.	255
---	-----

INFORMACE

Hledá se spolupráce s průmyslem	79
Davídek J.: EURO FOOD TOX IV „Bioactive substances in food of plant origin“ 22–24 September, 1994	81

Instructions for authors

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

Manuscript should be typed with a wide margin, double spaced on standard A4 paper. Articles on **floppy disks** are particularly welcome. Please indicate the editor programme used.

Text

Full research manuscript should consist of the following sections: Title page, Abstract, Keywords, a short review of literature (without "Introduction" subtitle), Materials and Methods, Results, Discussion, References, Tables, Legends to figures. A title page must contain the title, the complete name(s) of the author(s), the name and address of the institution where the work was done, and the telephone and fax (e-mail) numbers of the corresponding author. The Abstract shall not exceed 120 words. It shall be written in full sentences and should comprise base numerical data including statistical data. As a rule, it should not give an exhaustive review of literature. In the chapter Materials and Methods, the description of experimental procedures should be sufficient to allow replication of trials. Plants must be identified by taxonomic and common name. Abbreviations should be used if necessary. Full description of abbreviation should follow the first use of an abbreviation. The International System of Units (SI) and their abbreviations should be used. Results should be presented with clarity and precision. Discussion should interpret the results. It is possible to combine Results and Discussion in one section. References in the text to citations comprise the author's name and year of publication. If there are more than two authors, only the first one should be named in the text, followed by the phrase "et al.". References should include only publications quoted in the text. They should be listed in alphabetical order under the first author's name, citing all authors, full title of an article, abbreviation of the periodical, volume number, year, first and last page numbers.

Tables and Figures

Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes. Figures should be referred solely to the material essential for documentation and for the understanding of the text. Duplicated documentation of data in figures and tables is not acceptable. All illustrative material must be of publishing quality. Figures cannot be redrawn by the publisher. Photographs should exhibit high contrast. All figures should be numbered consecutively with arabic figures. Both line drawings and photographs are referred to as figures. Each figure should contain a concise, descriptive legend.

Offprints: Forty (40) offprints of each paper are supplied free of charge to the author.

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.

OBSAH – CONTENTS

Holasová M., Velíšek J., Davídek J.: Tocopherol and tocotrienol contents in cereal grains – Obsah tokoferolů a tokotrienolů v obilovinách.	409
Kmínková M., Moučka Z., Kučera J.: Extraction of digestive enzymes from viscera of carp – Extrakce digestivních enzymů z vnitřnosti kapra	419
Blahovec J., Jeschke J., Houška M., Paprštejn F.: Mechanical properties sweet and sour cherries determined by compression between two plates – Mechanické vlastnosti třešní a višni určené stlačováním mezi dvěma deskami	425
Velíšek J., Davídek J., Holasová M., Mňuková J., Petr J.: Obsah některých vitaminů v pšenici a ječmeni pěstovaných ekologickým způsobem – Content of some vitamins in wheat and barley from organic farming.	437
Veselý Z., Boháčeno I.: Imunoafinitní extrakce aflatoxinů a jejich stanovení metodou HPLC v surovinách, potravinách a krmivech – Immunoaffinity extraction of aflatoxins and their HPLC determination in raw materials, foods and feeds	451
Kmínková M., Moučka Z., Kučera J.: Detekce některých enzymů v hepatopankreatu kapra – Detection of enzymes in hepatopancreas of carp (<i>Cyprinus carpio</i>).	461
Houška M., Greé R., Kýhos K., Žitný R., Šesták J.: Změny viskozity jogurtů ve výrobní lince – Changes in yoghurt viscosity in a production line	469

PŘEHLEDY

Houšová J.: Přehled a charakteristika publikovaných modelů mikrovlnného ohřevu potravin – Mathematical modelling of food microwave heating	485
--	-----

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, e-mail: braun@uzpi.agrec.cz ♦ 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