

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

Czech Journal of
FOOD SCIENCES

Potravinářské vědy

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

2

VOLUME 16
April 1998
CS ISSN 0862-8653

An international journal published under the authorization by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic and under the di-rection of the Czech Academy of Agricultural Sciences

Mezinárodní vědecký časopis vydávaný z pověření Ministerstva zemědělství České republiky a pod gesceí České 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, PASCAL – CD-ROM (INIST), WLAS, TOXILINE PLUS and Czech Agricultural Bibliography.

Editorial board – Redakční rada

Chairman – 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., prof. Ing. Jan Pokorný, DrSc., prof. Ing. Mojmír Rychtera, CSc., Ing. Olga Štiková, CSc., MUDr. Bohumil Turek, CSc., prof. Ing. Jan Velíšek, DrSc.

Foreign Members of the Editorial Board – Zahraniční členové redakční rady

Prof. Dr. Werner Baltes (Germany), Dr. Reto Battaglia (Switzerland), Ing. Milan Kováč, CSc. (Slovak Republic), Prof. Dr. Halina Kozłowska (Poland), Prof. Dr. Radomir Lászity (Hungary), O. Univ. Prof. Dr. Werner Pflannhauser (Austria), Prof. Ing. Alexander Príbel, DrSc. (Slovak Republic)

Editor-in-chief – Vedoucí redaktorka

RNDr. Marcela Braunová

Aim and scope: The journal publishes original scientific papers, preliminary reports, short communications and reviews. Paper are published in English, Czech, or in Slovak.

Periodicity: The journal is published six times a year. Volume 16 appearing in 1998.

Acceptance of manuscripts: Two copies of manuscript should be addressed to: RNDr. Marcela Braunová, editor-in-chief, Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic, tel.: + 420 2 25 10 98, fax: + 420 2 242 538 39, e-mail: editor@login.cz. Both the dates of the reception of the manuscript and of the acceptance by the editorial board for publishing will be indicated in the printed contribution.

Subscription information: Subscription orders can be entered only by calendar year and should be sent to the contact address. Subscription price for 1998 is 84 USD (Europe) and 88 USD (overseas).

Cíl a odborná náplň: Časopis publikuje původní vědecké práce, předběžná a krátká sdělení a odborná review. Práce jsou publikovány v angličtině, češtině nebo ve slovenštině.

Periodicita: Časopis vychází šestkrát ročně. Ročník 16 vychází v roce 1998.

Přijímání rukopisů: Rukopisy ve dvou kopiích je třeba zaslat na adresu redakce: RNDr. Marcela Braunová, vedoucí redaktorka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, Česká republika, tel.: 02/25 10 98, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@login.cz. V uveřejněném příspěvku se uvádí jak datum doručení rukopisu do redakce, tak i jeho přijetí redakční radou k publikaci.

Informace o předplatném: Objednávky na předplatné jsou přijímány na celý rok na adrese: Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 1998 je 336 Kč.

Ethanol Fermentation of Grain Mashers with regard to Quality of Distiller's Slops*

Andrea HINKOVÁ¹, Pavla CHOTĚBORSKÁ, Karel MELZOCH, Mojmir RYCHTERA, Zdeněk BUBNÍK¹

Institute of Chemical Technology – Department of Fermentation Chemistry and Bioengineering and ¹Department of Carbohydrate Chemistry and Technology, Prague, Czech Republic

Abstract

HINKOVÁ A., CHOTĚBORSKÁ P., MELZOCH K., RYCHTERA M., BUBNÍK Z. (1998): Ethanol fermentation of grain mashers with regard to quality of distiller's slops. Czech J. Food Sci., 16: 41–46.

With enlarging bioethanol production units the amount of secondary products – distiller's slops becomes a hardly solvable problem. In the Czech Republic the slops are not utilized economically because of liquid character, high risk of microbial contamination and difficult manipulation. In our work we try to find new processes leading to improving stillage quality. It is possible to achieve it by convenient choice of raw material, technology and following modification of stillage. First, mashers from rye or triticale were prepared by means of enzymatic preparations of the firm NOVO Nordisk: Termamyl 120 L, BAN 240 L, SAN Super 240 L and Ultraflo L. In the course of experiments the level of saccharification and yield of ethanol after fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* were determined. The highest yield of ethanol was attained for standard triticale mashers. Comparable value was obtained for rye mashers treated with Ultraflo L. Preparation Ultraflo L also considerably reduced viscosity of mashers. In the second part of our work slops were treated with *Rhodotorula glutinis* yeasts. It was proved that subsequent cultivation reduced viscosity of stillage. Simultaneously stillage was enriched with protein and, in addition, amino acid composition was more suitable for feeding purposes.

cereals; bioethanol; distiller's slops; feed; *Rhodotorula glutinis*

Owing to increasing energy and fossil raw material prices new trends for substitution of these materials with renewable natural resources appear. One of these materials is bioethanol, which can be used as an energy source. Bioethanol is obtained from plant materials naturally renewable by photosynthesis process. When bioethanol is burning, liberating CO₂ goes to atmosphere, where it came from. That means that balance between CO₂ consumption and liberation is preserved and use of bioethanol as a power source could help to solve partially the global ecological problems such as the greenhouse effect and warming-up.

Molasses is a traditional material for ethanol industry in the Czech Republic, but today, on account of price and ecology, grain becomes more attractive. Rye, wheat are especially processed, less barley and triticale (Šimůnek et al., 1997).

Wheat is appreciated for high content of starch and its grain does not have any husks. Rye has properties mentioned above, in addition it has own amyolytic enzymes helping to convert starch to a complex of sugars. Dis-

advantage is high viscosity of rye mashers. Imperfection of barley is kernel with husk that makes fermentation and distillation problems. Importance of triticale is rising. There are no significant differences between crop yield of triticale and crop yield of wheat. Triticale is more resistant to climate, with lower requirements for nutrition and it has own amyolytic enzymes (Šimůnek et al., 1997).

The production of ethanol from grain consists of a few main steps (Dellweg, 1983):

- treatment of feedstock to form a solution of fermentable carbohydrates
- fermentation
- distillation of ethanol from the fermented mash

Ethanol is distilled from the fermented mash leaving distiller's slops (stillage).

Quantity of stillage produced equals 10–15 times the amount of ethanol produced, on volume basis (Mairella et al., 1983).

Composition of slops depends on methods and procedures of industrial production of alcohol from starchy raw materials. Besides starch, dextrines and other sugars al-

* This work was supported by the National Agency for Agricultural Research of the Czech Republic (Grant No. IE 096 098 – 6668).

ready converted to ethanol, stillages contain all other non-volatile substances of raw material used, in more or less converted conditions: lipids and protein degradation products thereof, vitamins, minerals and fibrous material (K r e i p e, 1981). In addition, stillages contain all yeasts grown during fermentations. This content of considerable amount of yeasts affects an increase of economic value of the stillages by a surplus of proteins, amino acids, vitamins and further growth supporting compounds. A comparison of the composition of dry matter of starchy raw materials with corresponding stillages, for example from wheat (H o f m a n n, 1982), shows clearly that stillages contain a threefold amount of lipids, protein and fibrous material (Table I).

I. Composition of wheat and wheat stillage

	Wheat	Wheat stillage
	[% (w/w) in dry matter]	
Crude protein	13.2	33.8
Fat	2.0	6.8
Fibre	2.9	9.4
Free extractable substances	79.9	44.6
Organic substances	98.0	94.6
Ash	2.0	5.4

In the Czech Republic the slops are used without any other treatment as a feed or fertiliser and they are not used commercially on the market and have to be considered as problematic waste.

In the United States slops are separated into approximately equal part of distiller's grains and distiller's solubles (thin stillage) by centrifugation or straining. The material is then usually dried via evaporation. Distiller's dried grains, distiller's dried solubles or a product consisting of both fractions (distiller's dried grains with solubles) are produced and their cost is approximately 150 \$ per ton in the world food trade (Technical information of Kvaerner Hetland 1997).

There are also other methods for utilisation and disposal of grain slurries:

- production of biogas from thin stillage (M i s e l h o r n, 1981)
- production of amylolytic enzymes from thin stillage (O f f e r, L a u e, 1982)
- production of dietetic products for humans (T h a c k e r, 1991)
- separation of valuable substances, for example glycerol and organic acids (C h e r y a n, P a r e k h, 1995)

MATERIAL AND METHODS

Raw Materials

Two cereals were used for trials – rye and triticale.

Analytical Methods

- **Dry matter:** Drying at temperature 105 °C, **Starch:** Ewers method, **Reducing sugars:** Schoorl method, the result was expressed as glucose, **Crude proteins:** Kjeldahl method (D a v í d e k, 1981);
- **Amino acids:** analysed after acid hydrolysis with HCl ($c = 6M$) by ionex chromatography (AAA T 339 – Mikrotechna, Czech Republic) column filling: cation exchanger Ostion LG ANB, eluent: citrate-sodium buffer, pH gradient: 3.5–9.5, detection: spectrophotometrically after reaction with ninhydrin
- **Gluten:** determined by weighing after washing on apparatus GLUTOMATIC (Falling Number, Great Britain) in 2% solution NaCl
- **Glycerol:** measured on HPLC 4001 (LP Prague, Czech Republic), column packing: strong acidic cation exchanger Ostion LG KS 0800 in a H^+ cycle, detection: refractometer RIDK 1101, eluent: H_2SO_4 ($c = 0.005 \text{ mol/l}$)
- **Viscosity:** determined on rotary viscometer HAAKE VT 500 (Germany) in a coaxial cylinder system at temperature 50 °C
- **Thousand-kernel weight, Weight per hectolitre:** according to B a s a ř o v á (1993)

Enzyme Preparations

All used enzyme preparations were obtained from NOVO Nordisk (Denmark).

1. Termamyl 120 L – endoamylase hydrolyzing α -(1,4)-glucosidic bonds of amylose and amylopectin with declared activity 120 KNU/g, dosing 1.3 l of enzyme per 1 ton of starch.
2. BAN 240 L – bacterial endoamylase hydrolysing amylose and amylopectin to dextrans and oligosaccharides, with activity 240 KNU/g, dosing 0.66 l per 1 ton of starch.
3. SAN Super 240 L – multi-active amyloglucosidase which breaks down starch and dextrans to glucose, α -amylase and protease are in this enzyme preparation also present, activity is 240 AGU/ml, dosing 1 l of enzyme per 1 ton of starch.
4. Ultraflo L – β -glucanase with cellulase, xylanase and arabinase activities, dosing 0.2 l of enzyme per 1 ton of starch.

Explanation of enzyme activities:

1 KNU is an amount of enzyme necessary for conversion of 5.26 g starch during one hour in conditions described by the producer. 1 AGU is an enzyme amount breaking down 1 mmol of maltose during one hour in conditions described by the producer.

Cereal Mashers

Totally four kinds of mashes, designated I–IV, were prepared from all used cereals (Table II). Cereals were ground in the centrifugal mill ZN 1000 (Retsch, Germany) to fine grits with maximal particle size 0.75 mm. Cereal grits were mixed in 6 litre volume flask together with tap water at a ratio 1 : 3.

Starch contained in this suspension was converted to fermentable sugars by adding of Enzyme preparations in amounts recommended by the producer (see the previous paragraph) during continuous stirring and temperature and pH controlled. Enzymes were dosed into all mashes in the following way: Termamyl 120 L was dosed at mash temperature 95 °C and pH 6.2. After 1 hour of Termamyl 120 L action the mash was cooled down to 65 °C, pH was adjusted to 5.7 and the preparation BAN 240 L was added. The reaction time was also 1 hour. The last enzyme preparation SAN Super 240 L was added at temperature 55 °C and pH 5.5 and acted also 1 hour.

This process of enzyme dosing was different only for mash III, where preparation Ultraflo L was dosed together with BAN 240 L.

The degree of starch conversion was tested with iodine solution. To ensure the constant conditions during medium preparations and constant time of enzymatic action, mashes I and IV were sterilized for 20 minutes at 120 °C and under pressure 0.1 of MPa (Table II).

Microorganisms

Yeasts of *Saccharomyces cerevisiae* (03/26) and *Rhodotorula glutinis* from the Culture Collection of Department of Fermentation Chemistry and Bioengineering were maintained on malt agar slants at 4 °C. Inocula of both strains were grown on complete medium at 30 °C for 24 hours in Erlenmayer flasks placed on the rotary shaker.

Fermentation

pH of mashes was adjusted in the interval of 5.2–5.4 before fermentation. 450 ml of mash was put into the series of four 1000ml Erlenmayer flasks and each flask was inoculated with 1.6–1.7 g centrifuged *Saccharomyces cerevisiae* yeast suspension (dry matter 20%). Mashes were let to ferment under anaerobic conditions at temperature 30 °C for 64–72 hours.

Distillation

Ethanol was distilled off the fermented mashes on the vacuum rotary evaporator at temperature under 80 °C to restrict the singe formation.

Improving Quality of Stillages – Cultivation on Rye and Triticale Slops

Yeasts of *Rhodotorula glutinis* were cultivated on rye and triticale slops and on rye slops brought from agricultural distillery Termesiv. The fermentation was carried out in a laboratory fermentor BIOSStat (B. Braun Biotech. Int., Germany) with control system MICRO.DCU-200 under aerobic conditions at temperature 30 °C. The pH value was kept at 5.2 by addition of 10% (w/w) H_2SO_4 . 1.5 l of medium was supplemented with 1.5 g KH_2PO_4 and 3.6 g $(NH_4)_2SO_4$ and inoculated with 0.6 g (as dry matter) yeast biomass. The cultivation lasted 24 hours for triticale and Termesivy slops and 72 hours for rye slops.

RESULTS AND DISCUSSION

The first part of the work presents the preparation of four grain mashes from which the distiller's slops were obtained after fermentation and distillation. In the second part chosen stillages – which we designate as cultivated slops, were improved by cultivation with *Rhodotorula glutinis*.

The composition and Pretreatment of Raw Material

The main aim was to find influence of different ways of mash preparation on ethanol yield and quality of slops. Also the different pretreatments including disintegration of grains were tested.

Chemical composition of cereals and especially starch content are very important to deduce the convenience of grains for fermentation (Table III). From this point of view triticale seems to be very suitable, while rye is less acceptable due to 9% lower starch content.

This property is also confirmed by high weight per hectolitre in triticale sample which shows also a high amount of extractable substances. To state a good extractability in spite of high proteins content (over 11.5%) is possible from thousand-kernel weight.

Amino acid and protein compositions (Table VI) are coincident for both compared cereals. Triticale contained lower amounts of phenylalanine, arginine and tyrosine and more glutamic acid and serine than rye.

Evaluation of Starch Conversion during Enzyme Action in Cereal Mashes

Properties and behaviour of medium during conversion of starch to fermentable sugars is another important point of view for deducing the grain quality. Rye mashes I and II showed the high density and viscosity at the beginning of fermentation when the gelation started. The mixing of mashes was often interrupted because of big rheological resistance of the medium. But when long amylose chains were hydrolysed by Termamyl 120 L action, the medium turned to liquid and viscosity decreased. Triticale mash (mash IV) does not contain such a high quantity of hemicellulose and dextrin and so there were no big problems during the mixing and preparation of medium.

For a good course of fermentation it is necessary to ensure maximal starch conversion to fermentable sugars. The degree of starch conversion is possible to determine by comparing starch values in mash and the corresponding slop (Table IV).

More than 95% of starch was converted and utilized in mashes II and III. Starch content in slops I and IV is about 40 % higher than in the other cases, which was probably caused by sterilization. During sterilization the enzyme preparations were denatured, their action was interrupted and that is why starch conversion did not continue. Anyway, the nitrogenous-sugar complexes were formed at high temperatures and these complexes were not utilizable for

II. Designation and preparation of cereal mashes

Mash	Raw material	Enzyme application				Sterilization before fermentation	Time of enzyme treatment [min]
		Termamyl 120 L	BAN 240 L	SAN 240 L	Ultraflo L		
I	rye	yes	yes	yes	no	yes	260
II	rye	yes	yes	yes	no	no	for whole process for whole process
III	rye	yes	yes	yes	yes	no	
IV	triticale	yes	yes	yes	no	yes	225

III. Chemical composition and properties of cereals

Cereal	Dry matter	Starch	Reducing sugars	Proteins	Gluten	Weight	Thousand-kernel weight
	[% (w/w)]	[% (w/w) in dry matter]				[kg/hl]	[g]
Rye	89.2	58.3	3.1	11.9	0.0	79.5	46.2
Triticale	86.4	67.2	0.6	11.9	6.0	90.0	35.3

IV. Composition of mashes and original and cultivated slops

	Dry matter	Starch	Reducing sugars	Proteins	Glycerol
	[% (w/w)]	[% (w/w) in dry matter]			
Mash I*	23.1	42.9		29.7	11.5
Mash II	22.0	50.4		18.9	12.0
Mash III	22.1	48.9		19.5	12.0
Mash IV*	21.2	48.9		12.5	12.5
Original slops I	13.9	45.5		14.6	14.5
Original slops II	9.7	0.4		1.9	23.6
Original slops III	10.1	2.3		2.7	24.8
Original slops IV	16.8	43.1		9.2	15.6
Original Termesiv slops	4.4	11.5		19.5	14.4
Cultivated slops I	14.3	34.6		2.2	18.8
Cultivated slops IV	16.1	43.9		14.5	17.3
Termesiv slops	2.9	7.5		13.6	29.8

*For these mashes all analytical data were measured after sterilization

yeasts, which is evident from the high reducing sugar values after fermentation in slops I and IV.

Results of Fermentation - Ethanol Yields

The way of enzyme dosing, mash treatment and used cereals have a great influence on ethanol yields. The highest yields (Table V) were in triticale mash IV and rye mash III with added preparation Ultraflo L. This enzyme preparation hydrolysed cellulose, xylan and arabinan and so the yeasts could utilize other fermentable sugars than those originated from starch. Sterilized rye mash I gave about 20-25% lower ethanol yield per utilizable sugars in comparison with other mashes. It was probably caused by sterilization (see the previous paragraph) or by high demands for maintenance or other nonfermentative processes.

V. Ethanol yields

Ethanol (g per 100 g of)	Mash			
	I	II	III	IV
Fermented mash	4.0	6.8	8.1	5.3
Entry cereal dry matter	16.6	29.7	40.3	25.6
Input sugars	39.9	58.7	65.2	64.8

Cultivation of *Rhodotorula glutinis* on Distiller's Slops

Original slops I and IV were chosen for cultivation because they were prepared in the identical way from different kind of grains. Both cultivations on stillages I and IV were compared with fermentation of distiller's slops from Termesiv distillery.

VI. Protein and amino acid composition of mashes and slops [% (w/w) in dry matter]

Amino acids	Raw material		Slops I		Slops IV		Termesivý slops	
	rye	triticale	original	cultivated	original	cultivated	original	cultivated
Asparagine	0.646	0.643	0.229	0.941	0.832	0.794	0.474	0.768
Threonine	0.360	0.362	0.216	0.582	0.596	0.600	0.496	0.743
Serine	0.398	0.439	0.219	0.577	0.702	0.579	0.396	0.571
Glutamine	2.440	3.080	1.774	2.751	3.201	3.252	2.270	3.255
Proline	0.943	1.047	1.334	1.102	1.384	1.047	1.103	1.149
Glycin	0.392	0.413	0.490	0.570	0.425	0.506	0.392	0.573
Alanine	0.368	0.366	0.384	0.539	0.389	0.430	0.312	0.514
Cysteine*	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Valine	0.449	0.457	0.501	0.577	0.529	0.485	0.410	0.536
Methionine*	0.007	0.007	0.028	0.037	0.038	0.064	0.024	0.037
Isoleucine	0.360	0.307	0.460	0.489	0.493	0.448	0.236	0.416
Leucine	0.657	0.651	0.861	0.846	0.915	0.818	0.452	0.766
Tyrosine	0.112	0.072	0.225	0.222	0.288	0.211	0.200	0.227
Phenylalanine	0.585	0.430	0.581	0.586	0.555	0.534	0.360	0.544
Histidine	0.237	0.229	0.364	0.536	0.401	0.387	0.180	0.254
Lysine	0.157	0.165	0.174	0.297	0.063	0.099	0.041	0.069
Arginine	0.473	0.381	0.780	0.760	0.662	0.892	0.380	0.820
Total amount	8.59	9.05	8.62	11.41	11.47	11.15	7.73	11.24
Proteins	11.9	11.9	14.5	18.8	15.6	17.3	14.4	29.8

*Amino acids were partly hydrolysed during treatment of sample for analysis

The course of cultivation was determined from changes of reducing sugar and starch concentrations before and after bioprocess (Table IV). Besides these substances the utilization of other organic compounds like glycerol was also presumed.

It is evident from the results that the biggest fall of all analysed compounds (i.e. the best utilization of remaining substances) was obtained during 72 hours cultivation of distiller's slops I. This decrease is significant especially for reducing sugars, which were utilized by *Rhodotorula glutinis* from 90%. 24 hours cultivation was not sufficient, because utilizable substances as starch, glycerol and reducing sugar did not degrade totally.

The aim of cultivation was above all to increase the nutritive values of distiller's slops. During all cultivations protein amounts increased in comparison with the raw material and original slops (Table VI) especially for Termesivý slops the increase was by 100%. However, Termesivý slops are not typically grain slops, there are addition of starch waste. The increase was by 30% for slops I and IV.

The increase of amino acid content is considerable for stillages I and Termesivý, for slops IV it was lower probably because of short-term cultivation. From the feed industry point of view amino acid content namely lysine, arginine and histidine are important. After cultivation amounts of these amino acids rose except arginine content in slops I and histidine in slops IV.

Viscosity Measurement

High viscosity has negative influence on the thickening of distiller's slops in evaporators. That is why possibilities of viscosity reduction, especially in rye stillages were tested (Table VII).

VII. Viscosity of slops and mashes

Sample	Viscosity [Pa.s]
Mash I	0.0810
Original slops I	0.0801
Cultivated slops I	0.0347
Mash II	0.0755
Mash III	0.0333
Original slops III	0.0281
Original slops IV	0.0562
Cultivated slops IV	0.0374
Mash V	0.0126
Original slops V	0.0086

Generally triticale materials had lower viscosity than rye except the mash III viscosity which decreased from 0.07 to 0.03 Pa.s after application of enzyme preparation Ultraflo L. Lower viscosity value in mash II in comparison with mash I shows the influence of longer enzyme action during the whole process.

Both bioprocesses – fermentation and cultivation caused viscosity decrease. The viscosity fall after cultivation with *Rhodotorula glutinis* is higher than after fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*.

Conclusion

1. Triticale cereal seems to be more convenient for bioethanol production than rye with regard to chemical composition (about 9% higher starch content, 2.5% higher reducing sugar content and higher weight per hectolitre).
2. Adding of enzymatic preparation Ultraflo L to rye mash during starch conversion increases ethanol yield, decreases viscosity and improves other properties of distiller's slops. Rye mashes after Ultraflo L application had comparable properties with triticale mashes.
3. For a sufficient starch conversion it is necessary not to interrupt enzyme action by sterilization. Sterilization of mash before fermentation also considerably lowered ethanol yields.
4. Cultivation of *Rhodotorula glutinis* on distiller's slops improved their quality with regard to a considerable increase of amino acid and protein content and decrease of glycerol amount.
5. 24 hours lasting cultivation of *Rhodotorula glutinis* is not sufficient for degradation of all utilizable substances.

Acknowledgement

We would like to thank to dr. Hana Hájková from the firm Ekozyme s.r.o., who afforded us enzymatic preparations of NOVO Nordisk.

Souhrn

HINKOVÁ A., CHOTĚBORSKÁ P., MELZUCH K., RYCHTERA M., BUBNÍK Z.: Etanolová fermentace obilných zápar se zřetelem na kvalitu lihovarských výpalků. Czech J. Food Sci., 16: 41–46.

S rostoucí výrobou bioetanolu roste i objem vedlejšího produktu – lihovarských výpalků. Vzhledem k tekutému charakteru, vysokému riziku mikrobiální kontaminace a špatné manipulovatelnosti se v České republice výpalky ke komerčním účelům příliš nevyužívají. Proto se hledají postupy zlepšující kvalitu lihovarských výpalků, což je předmětem studia této práce. Dosáhnout toho lze zejména výběrem vhodné suroviny, technologického postupu, popř. dalšími úpravami. V první části práce byly z žita a tritikale připraveny zápary pomocí enzymových preparátů firmy NOVO Nordisk: Termamyl 120 L, BAN 240 L, SAN Super 240 L a Ultraflo L. Bylo hodnoceno zcukření zápary a po fermentaci *Saccharomyces cerevisiae* i výtěžky etanolu, které byly nejvyšší u žitných zápar s přísadkou Ultraflo L a dále u tritikalových zápar. Preparát Ultraflo L se velmi dobře osvědčil i při snižování viskozity zápar. V druhé části práce byl sledován vliv kultivace kmene *Rhodotorula glutinis* na lihovarských výpalcích na jejich vlastnosti. Bylo prokázáno, že následná kultivace značně snižuje viskozitu výpalků. Zároveň dojde k vysokému obohacení výpalků o bílkovinu (téměř o 30 % u připravovaných výpalků, u výpalků dodaných z lihovaru o 100 %), jejíž aminokyselinové složení je pro krmné účely výhodnější.

obilniny; bioetanol; lihovarské výpalky; krmivo; *Rhodotorula glutinis*

Contact address:

Ing. Andrea Hinková, Vysoká škola chemicko-technologická, Ústab chemie a technologie sacharidů, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika, tel.: + 420 2 2435 3111, fax: + 420 2 311 99 90, e-mail: Andrea.Hinkova@vscht.cz

References

- BASAŘOVÁ G. et al. (1993): Pivovarsko-sladařská analytika. Praha, Merkanta.
- CHERYAN M., PAREKH S. R. (1995): Separation of glycerol and organic acids in model ethanol stillage by electrodialysis and precipitation. Process Biochem., 30: 17–23.
- DAVÍDEK J. et al. (1981): Laboratorní příručka analýzy potravin. Praha, SNTL/ALFA.
- DELLWEG H.: In: REHM H.-J., REED G. (1983): Biotechnology, Vol. 3. Weinheim.
- HOFMANN P. (1982): Wirtschaftlicher Einsatz der Schlempe in der Fütterung. In: Handbuch für die Brennerei- und Alkoholkirtschaftlicher. Hagen, Dr. M. Beck.
- KREIPE H. (1981): Getreide- und Kartoffelbrennerei. Stuttgart, Eugen Ulmer.
- MISSELHORN K. (1981): Ethanol als biotechnologische Energie-Quelle. Chemie – Ingenieur – Technik, 53: 47–50
- MAIORELLA B. L., BLANCH H. W., WILKE C. R. (1983): Distillery effluent treatment and by-product recovery. Proc. Biochem., 18: 5–8, 12.
- OFFER G., LAUE F. (1982): Gewinnung von amylolytischen Enzymen aus Brennereischlempe – ein Beitrag zur Senkung der Abwasserbelastung. Branntweinwirtschaft, 122: 18–22.
- PIEPER H. J. (1990): Utilization of waste materials in alcohol industry. Food Biotech., 4: 203–214.
- ŠMÚNEK P., PELIKÁN M., STAŇKOVÁ M. (1997): Stanovení výtěžku alkoholu u tritikale. Kvasný průmysl, 43: 99–101.
- Technical information of Kvaerner Hetland. 1997.
- THACKER, R. S. (1991): European patent WO 91/03543.

Received December 1, 1997

The Decrease of Energetic Value of Bakery Products using a Commercial Resistant Starch

Markéta ČECHOVÁ, Pavla MEDONOSOVÁ, Josef PŘÍHODA

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

Abstract

ČECHOVÁ M., MEDONOSOVÁ P., PŘÍHODA J. (1998): **The decrease of energetic value of bakery products using a commercial resistant starch.** Czech J. Food Sci., 16: 47–51.

A commercial resistant starch product Novelose™ was used replacing either part of flour or part of fat in bakery products. When wheat flour was replaced, a total water dose to dough had to be increased. Specific volume of standard wheat bread with the Novelose was slightly decreased and staling was slower (crumb consistency and mouth feeling was satisfactory after 7 days) in comparison to traditional product. Good quality of baked products from whipped batters was reached when 50% of fat was replaced by Novelose, but an emulsifier had to be added to improve whipping. When fat is replaced, the decrease of energetic value is more important (about 16%) than when flour is replaced.

resistant starch; bakery products; crumb staling; energetic value; dietary fiber

The aim of the work has been to study the possibilities of decrease of energetic value of products by replacing a part of ingredients in formula with resistant starch Novelose™, a commercial product of National Starch and Chemical (1996). Total dietary fiber (TDF) content was increased by the addition of Novelose (M u i r, 1993). Its effect on rheological properties of wheat dough was studied by means of rheofermentometer (Tripette-Renaud/Chopin) and Farinograph (Brabender). Modified formulas of yeast leavened wheat bread (F i n e y, 1984), and yellow layer cake were proposed when a part of flour or fat as single as in combination were replaced by resistant starch. Enzymatic-gravimetric AOAC method procedure (AOAC Method 985.29) was used for a determination of TDF.

A Decrease of Energetic Value of Food

The way to the energy decrease is either to decrease the content of fat and carbohydrates or increase a non-digestible part of food (R o l l e r, J o n e s, 1996). Commercial resistant starch Novelose was used for this purpose. Products and formulas used in this work were restricted by the possibilities of our test baking laboratory where only small baked products can be tested. Except of this, a Novelose producer has recommended to use it also in macaroni products, extruded and fried products (National Starch and Chemical).

A Novelose was used to replace both, flour and fat separately or together. Since Novelose has a water absorp-

tion approximately 180%, more water had to be added when fat was replaced. With the Novelose addition dough consistency was more affected than due to the declinations in fat-content.

MATERIALS AND METHODS

In all cases a standard commercial wheat flour was used for the dough and whipped mass preparation. Flours (fine flour T 530 or semi-coarse flour T 400) have ash content approximately 0.53% and 0.4%, respectively. Wet gluten content is in both of flours in average 26% in d.m.

Standard commercial yeast, salt, sugar, margarine (18% moist), sunflower oil and vital gluten (protein content 80%) were used in formulas. Different formulas are not described here to avoid the confusion when several types of products will be mentioned later. Exact formulas will be given when the results for separate products will be reviewed.

The Farinograph mixing bowl was used for dough making for wheat bread and small wheat loaves, the Kitchen Aid K5A mixer was used for the dough mixing of yellow layer cakes. For the baking the kitchen electric oven was used. Weight of the products was measured immediately after baking and once more next day (white bread).

Volume of the products was measured two hours after baking (ICC Standard 131, 1980) and cooling at room temperature.

I. Farinographic characters of wheat flour and a mixture flour + Novelse

	Absorption [%]	Dough development time [min]	Degree of softening [FU]	Stability [min]
Flour T 530	56.9	4	40	10
Flour T 530 + Novelse (80 : 20)	64	8	5	17

The determination of TDF was based on an enzymatic-gravimetric procedure (AOAC Method 985.29). Enzymes used for the determination of Total Dietary Fiber were from the kit TDF-100A (Sigma Chemical Co.). AOAC method was used with the Fibertec E laboratory instrument for the enzymatic hydrolysis of starch and protein.

Energetic value was calculated on the base of the energetic value of the ingredients.

Sensory analysis covered evaluation of crumb colour, crumb structure, aroma intensity, taste intensity, and mouthfeel.

The evaluation of rheological properties of flour resp. dough Farinograph

A standard farinographic curve was registered (ISO 5530 Part 1) with flour and with the mixture of flour and Novelse (80 : 20 weight parts). Absorption, dough development time, stability, and degree of softening (12 minutes after maximum) were determined by this way. The effect of Novelse on the flour properties is shown in Table I (results are an average of two determinations).

The consequences of Novelse addition are: increase of water absorption due to high absorption of Novelse itself (180%), a prolongation of dough development and lower softening degree.

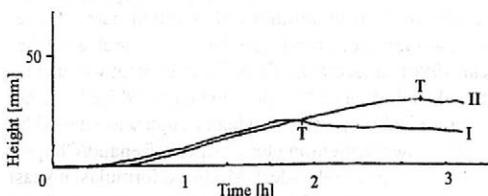
Rheofermentometer

Rheofermentometer is used to testify a yeast leavened dough ripening by means of increase of dough volume and CO₂ volume. Formulas of different types of dough are given in Table II.

II. Formulas of different types of dough measured at rheofermentometer as described by Eerlingen et al. (1994)

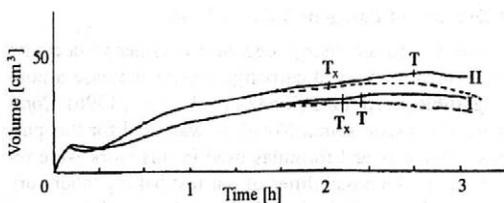
Ingredients	Type of dough			
	I	II	III	IV
Flour T 530 [g]	228	300	228	300
Wheat gluten [g]	12	-	12	-
Novelse [g]	60	-	60	-
Yeast [g]	2.28	2.28	2.28	2.28
Sugar [g]	-	-	18	18
NaCl [g]	-	-	4.5	4.5
Margarine [g]	-	-	9	9
Water [%]	59.9	55.7	59.2	54.3

Dough was mixed in farinographic bowl at 30 °C with the addition of water on the consistency of 600 FU. Mixing time was 7 minutes. 315 g of dough was put in the bowl of rheofermentometer not later than 3 minutes after the end of mixing. The bowl has to be hermetically closed. Temperature was kept on 28.5 °C. Two diagrams have been drawn during measurement. One of the diagrams shows the development of dough height in mixing bowl with time (Fig. 1). The level of dough is registered in the range from 0 (at the beginning) to 100% (maximum height). The second diagram shows two curves (Fig. 2). First one records the changes of a pressure of atmosphere in bowl during the time of fermentation (full curve). The second one records the pressure of the same mixture of gases in bowl reduced by the CO₂ that was absorbed by KOH solution (dashed curve). Consequently, the two curves on this diagram are identical only to the moment when the protein structure is weakened and is not able to keep fully the fermentation gas inside the cells. On the base of difference between two curves, gas retention coefficient can be calculated as per cent of not released gas.



T - time in which maximum height was reached

1. Rheofermentometric curve recording the height of dough



T_x and T - special characteristic times empirically read off the curves

2. The example of curves recording gas release

Rheofermentometric results with dough I and II

Dough development (height): 1 hour and 50 minutes reached a maximum; dough with Novelose (I) showed slight decrease after this maximum.

Gas release: The shape of curves for the dough I and II is similar but gas production in dough with Novelose was slightly lower, probably due to the lower content of fermentable saccharides from flour. Gas retention was very good for both of the dough. Retention coefficient was 93.6% for dough I and 94.1% for dough II, but absolute volume of gas production was small.

Dough III and IV

Dough development: the grow of height was identical till 2 hours and 20 minutes, then dough IV continued to increase volume only. Dough with Novelose kept then almost at the same level.

Gas release: The shape of curves did not differ significantly but again a gas release in the dough with Novelose was slightly lower. The explanation is probably the same as for the flour I. Retention of gas was better than for dough I and II. Retention coefficients were 97.3% (dough III) and 98.4% (dough IV).

PROCESSING OF PRODUCTS AND RESULTS**White Wheat Bread**

For the white wheat bread (approx. 1.3 kg) a formula proposed by Finney (Finney, 11984) was used. Dough was mixed in the Farinograph mixing bowl to the consistency 500 FU and left to fermentation for 105 minutes in proofing box at 32 °C. Dough was remixed after rest time 25, and 50 minutes. After proofing, dough was put to the forms and left for final proofing for approx. 55 minutes. Breads were baked for 24 minutes in kitchen electric oven heated to 215 °C.

III. Formula and results for white wheat bread

Ingredients [g]	Bread	
	standard	with Novelose
Wheat flour T 530	1 000	760
Margarine	30	30
Sugar	60	60
NaCl	15	15
Yeast	7.6	7.6
Wheat gluten	-	40
Novelose	-	200
Water	445	530
Properties		
Weight after baking [g]		
1. day	1 305	1 315
2. day	1 265	1 265
Loaf volume [cm ³]	2 982	2 831
Penetration in crumb [mm]	184.5	185.3
TDF in fresh bread [% in d.m.]	10.3	
TDF after 7 days storage [% in d.m.]	11.1	
Energetic value [kJ per 100 g]	1 319	1 280

tency 500 FU and left to fermentation for 105 minutes in proofing box at 32 °C. Dough was remixed after rest time 25, and 50 minutes. After proofing, dough was put to the forms and left for final proofing for approx. 55 minutes. Breads were baked for 24 minutes in kitchen electric oven heated to 215 °C.

Despite the determination of TDF is very complicated and error of method is not negligible, our results confirm conclusions of E r l i n g e n et al. (1994), that content of resistant starch increased during bread storage.

Small Yeast Leavened Wheat Loaves

Dough was mixed in farinographic bowl with the consistency 600 FU. Proofing time was 45 minutes at 32 °C, then dough was remixed and divided to the pieces of 70 g weight. The loaves were left for 50 minutes for final proofing. Baking temperature was 230 °C, baking time 15 minutes for standard formula, 18 minutes for dough with Novelose. In formula wheat bread improver Naturbak (based on whey, oxidizer and emulsifier, Comp. Lactoprot Bohemia, České Budějovice) was included. The formula and results are shown in Table IV (results are an average of two determinations, consequently more detailed statistical evaluation was not done).

IV. Formula of small wheat loaves

Ingredients [g]	Standard dough receptura	Dough with Novelose
Wheat flour T 530	1 000	1 000
Yeast	40	40
Margarine	40	20
NaCl	20	20
Naturbak	15	15
Water	531	563
Novelose	-	20
Properties		
Weight of loaf (g)	59	61.7
Loaf volume (cm ³)	219	203
Baking time (min)	15	18
TDF (% in d.m.)	4.1	5.8

The loaves with Novelose showed greater yield but their crust colour was poorer. Interesting result is the increase of TDF (about 1.7%) when 2% of fat were replaced by 2% of Novelose. But producer of Novelose informs that a content of resistant starch in Novelose is approx. 30%. Consequently, the dose of resistant starch should increase TDF about 6%. But again the difference can be connected with the error of method.

Yellow Layer Cake

Traditional process was used to whip eggs with sugar. Before the end of whipping all other ingredients and water

were added. Finally flour, leavening agent, and oil were carefully mixed to the whipped mass. Yellow layer cake were baked in round form of constant diameter.

Six types of masses were whipped. For three of them fine flour T 530 was used, for three semi coarse flour T 400. Type I used the traditional standard formula, in types II, III, and IV 50% of fat was replaced by Novelose, in types V and VI all fat was replaced (Table V).

All the products were compared to the cake I, the standard formula without Novelose. The best height of cake was observed with cake IV with lower level of Novelose

and with leavening agent added. Almost the same height was observed with cakes V and VI where all fat dose was replaced by Novelose. But the structure of cake VI was too crumbly and the crumb of cake V was too sticky. The formula of cakes V and VI differed in the use of fine and semi-coarse flour only.

TDF content was considerably increased in the cake with Novelose (3.5%). As in the wheat bread, the content of TDF in the cake with Novelose was slightly higher than it would be proportional to resistant starch addition. TDF content yet increased after the cooling of cake.

V. Formula for yellow layer cake

Ingredients [g]	Types of mass					
	I	II	III	IV	V	VI
Flour – semi coarse	1 000	1 000	–	–	–	1 000
– fine	–	–	1 000	1 000	1 000	–
Sunflower vegetable oil	200	100	100	100	–	–
Sugar	770	770	770	770	770	770
Eggs	1 180	1 180	1 180	1 180	1 180	1 180
Leavening agent	–	–	–	30	30	30
Novelose	–	100	100	100	200	200
Water	120	300	300	300	480	480
Properties						
Height of cake [cm]	2.7	2.7	1.7	3.05	2.9	3
TDF [% in d.m.]	1.9	5.4				
Energetic value [kJ per 100 g of product]	1 529	1 277	1 277	1 290	1 146	1 146

Conclusions

Yeast leavened wheat bread products showed a slight decrease of specific volume when resistant starch (Novelose) was used. The decrease of volume was in accordance with the results of measurement with Rheofermentometer Chopin. Products with Novelose showed greater yield, higher crumb moisture and slower staling during 7 days storage. Total dietary fiber content was increased by Novelose addition without any remarkable changes in taste. TDF content was yet increased after 7 days storage probably due to gradual transformation of starch to resistant starch. The taste of bread was good but not fully typical for bread. Crumb structure was to some part similar to fine sweet good as e.g. sand mass products.

When used in whipped batters (yellow cake), acceptable results were obtained with 50% fat replaced by Novelose. This way the decrease of energetic value 16.5% was reached but whippability was worse than with the traditional formula. However whippability can be considerably improved when whipping stabilizer is used. Crumb structure of yellow cake is slightly affected by addition of Novelose but by means of suitable combination of ingredients and whipping conditions the difference can be acceptable from the point of view of considerable decrease in energetic value.

Acknowledgement

We appreciate the help of National Starch and Chemical, Praha and Lactoprot Bohemia, České Budějovice with supply some of the ingredients.

References

- EERLINGEN R. C., van HAESENDOCK I. P., de PAEPE G., DELCOUR J. A. (1994): Enzyme resistant starch. III. The quality of straight-dough bread containing varying levels of enzyme-resistant starch. *Cereal Chem.*, 71: 165-170.
- FINNEY K. F. (1984): An optimized, straight-dough, bread making method after 44 years. *Cereal Chem.*, 61: 20-27.
- MUIR J. G. (1993): Resistant starch – the neglected "dietary fiber"? Implication for health. Issued by National Starch and Chemical.
- NATIONAL STARCH AND CHEMICAL (1996): Healthy starch novation for snacks and cereals, *Food Tech Europe*: 46-50.
- ROLLER S., JONES S. A. (1996): *Handbook of fat replacers*. New York, CRC Press LLC.
- AOAC (1990): *Official Methods of Analysis* 985.29

Received December 3, 1977

Souhrn

ČECHOVÁ M., MEDONOSOVÁ P., PŘÍHODA J. (1998): Snižování energetické hodnoty pekařských výrobků rezistentním škrobem. Czech J. Food Sci., 16: 47–51.

Práce byla zaměřena na snižování energetické hodnoty u vybraných pekařských a cukrářských výrobků. Snižování energetické hodnoty lze dosáhnout snížením obsahu tuku, cukru nebo zvyšováním obsahu nestravitelného podílu v potravíně. Pro snížení obsahu energie a zvýšení obsahu vlákniny u výrobků byl vybrán výrobek firmy National Starch and Chemical – rezistentní škrob Novelose™, jehož vliv na reologické vlastnosti pšeničných těst byl sledován na rheofermentometru a farinografu. Rezistentním škrobem byl ve vybrané srovnávací receptuře (pšeničného chleba, běžného pečiva a korpusů ze šlehaných hmot) částečně nahrazen tuk nebo mouka, nebo část obou zmíněných surovin současně. K výpočtu energetických hodnot byly použity tabulky nutričních hodnot potravin po odečtení podílu vlákniny potravy. Vláknina potravy byla u senzoricky nejlepších výrobků stanovena enzymově-gravimetrickou metodou AOAC. U pekařských výrobků, pšeničného chleba a běžného pečiva došlo při použití výrobku Novelose k malému snížení objemu, což koresponduje s výsledky reofermentometrických měření. Obsah vlákniny v pšeničném chlebu s Novelosou byl poměrně vysoký (10,3 %) a během skladování se ještě zvýšil na 11,1 %. I přes menší objem byly výrobky s přísadkou rezistentního škrobu vláčnější a vláčnost si zachovávaly i v průběhu sedmidenního skladování. U korpusů ze šlehaných hmot se výrobek Novelose osvědčil i v poměrně vysokých dávkách k nahrazení až 50 % recepturní dávky tuku. Snižováním obsahu tuku se snížila energetická hodnota výrobků až o 16,5 %, ale došlo ke zhoršení šlehatelnosti hmot. Tento nedostatek se neprojeví v přítomnosti vhodného emulgátoru.

rezistentní škrob; pekárenské výrobky; stárnutí pečiva; energetická hodnota; vláknina potravy

Contact address:

Ing. Pavla Medonosová, Vysoká škola chemicko-technologická, Ústav chemie a technologie sacharidů, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika, tel.: + 420 2 2435 3120, fax: + 420 2 311 99 90, e-mail: prihodaj@vscht.cz

Errata

Prosíme čtenáře o opravu názvu práce autorů Kučerová R., Čepička J. uveřejněné v čísle 1/1998 na straně 15 – The readers should kindly correct the title of the paper published in issue 1/1998 on page 15:

Malolactic Fermentation in the course of Wine Formation.

Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

Mezinárodní konference o NIR spektroskopii

Ve dnech 15.–19. září 1997 se v prostorách Haus der Technik e.V., Essen (SRN) konala 8th International Conference on Near-Infrared Spectroscopy, tentokrát pod názvem Spectroscopy-Sensors-Chemometrics. Pořádal ji Mezinárodní výbor pro spektroskopii v blízké infračervené oblasti (ICNIRS) za předsednictví F. E. Burtona II (USA), pod záštitou prof. Dr. H. W. Sieslera z Ústavu fyzikální chemie Univerzity v Essenu. Konference se koná každé dva roky.

Na konferenci zaznělo 43 plenárních referátů vysoké odborné úrovně (v devíti sekcích), bylo prezentováno 189 posterů (v jedenácti sekcích) a mimo hlavní sál zástupci 14 předních firem předváděli produkty technologie NIRS. Těsně před zahájením konference byl pro zájemce uspořádán speciální kurs o teorii, instrumentálních otázkách a aplikacích NIRS a o základech chemometrie. Hlavního (pětidenního) jednání se zúčastnilo přes 400 účastníků z Evropy i zámorí a asi 150 zájemců za zlevněné jednodenní vložné. Dva nejlepší postery byly odměněny zvláštní cenou. Organizace konference byla precizní, dávala velký prostor neformálním kontaktům mezi účastníky mimo oficiální jednání a společenská úroveň byla přiměřená.

První den byl věnován základním problémům NIR spektroskopie, druhý den aplikaci optických senzorů v chemických výrobcích a v kontrole životního prostředí, dále aplikaci NIRS v lékařství, třetí den aplikaci NIRS ve farmaceutickém průmyslu, petrochemii a technologii plastů, čtvrtý den aplikaci NIRS v potravinářství a pátý den aplikaci v zemědělství. Jednání se aktivně zúčastnil zakladatel techniky NIRS Karl Norris (75 let) a dr. John S. Shenk, světoznámý tvůrce software pro NIRS techniku (oba USA).

K zajímavým referátům patřila zpráva od fy Zeiss Jena o miniaturizaci přístrojů NIRS (s využitím laserů), které budou přenosné a budou na trhu už v roce 1998. Zajímavý trend představuje využití optických senzorů, které umožní přímé vpichy sondy do měřených materiálů, aniž by materiál bylo třeba upravovat a pak plnit do měřících květ stabilních přístrojů. Lékař E. N. Lewis představil nové směry využití NIRS v kardiologii. G. B. Osborne z Austrálie představil aplikaci NIRS při měření stupně zmazovatelnosti škrobu při chemických úpravách potravin. Prof. Murray ze Skotska přednesl referát zaměřený na techniku měření autooxidace rybích tuků po ošetření antioxidanty. Dr. Batten z Austrálie pojednal o možnostech nasazení techniky NIRS k objektivnímu stanovení pálivosti papriky, pepře a jiného koření, ačkoli chemické stanovení je přinejmenším problematické. Přítomně zaujalo vystoupení Johna Shenka o tom, jak placená poradenská služba v USA využívá NIRS k mapování zapojenosti a složení golfových a fotbalových trávníků, k hodnocení jejich výživného stavu, aktuální potřeby závlahy a ošetření po zátěži.

V zemích EU byl proveden kruhový test a nyní se dopracovávají detaily propojení jednotlivých laboratoří NIRS ke stanovení vlhkosti, dusíkatých látek a oleje v řepce s využitím kalibrací v neurální síti. Další příspěvky v zemědělské sekci byly zaměřeny na vývoj rutinního měření kvality silážní kukuřice, měření průběhu degradace vlákniny píce v batoru, měření orientace celulósových fibril v lignifikovaných pletivech, k měření drsnosti povrchu a barvy rostlin aj.

Z posterů byla nejpočetnější sekce „agro“ (45) s tematicky různorodým zaměřením – od aplikací NIRS v cukrovarnictví a mlynářství k identifikaci odrůd rýže, k hodnocení sladké chuti jablek (aniž by plody bylo třeba při měření poškodit), biologické aktivity tříslovin a polyfenolů leguminóz, neurotoxinů, kvality odrůd olejnin, luskovin, ovoce, zeleniny, aminokyselin v zrnech ječmene až po sestavování směsí tabáku podle sensorických vlastností. Zde byl prezentován poster autora zprávy *Využití diskriminační analýzy pro predikci botanického složení lučního porostu**. Z ČR se konference zúčastnila Ing. G. Budínová (VŠCHT Praha) s posterem: *Studium laktace za použití spektroskopie v blízké infračervené oblasti a FT Ramanovy spektroskopie: stanovení bílkovin v lidském mléce* (Budínová G., Čurda L., Volka, K.), který byl zařazen do sekce potravinářské. V této sekci bylo prezentováno celkem 31 posterů k hodnocení kvality oleje, vařených brambor, ovocných šťáv, surového mléka, různých druhů masa, kvantitativní analýze alkoholu skutečného extraktu, hustoty, obsahu dusíku a polyfenolů v pivu, dále chemického složení medu aj.

Pro účastníky konference byl vydán pracovní sborník referátů a abstrakta posterů. Oficiální sborník z konference vyjde na jaře 1998 jako zvláštní číslo časopisu *Journal of NIR Spectroscopy* (Chichester, U.K.) včetně CD-ROM.

Další, tj. devátá mezinárodní konference o NIR spektroskopii (NIR 99), se bude konat ve Veroně (Itálie) ve dnech 13.–18. 6. 1999 pod názvem *Toward the 3rd Millennium*.

Konference potvrdila, že spektroskopie v blízké infračervené oblasti se v posledním desetiletí stala respektovanou metodou, která ve výrobě postupně nahrazuje zdlouhavé a náročné konzervativní techniky stanovení kvality surovin, meziproduktů i finálních výrobků a uplatňuje se při monitoringu změn na nejrůznějších objektech (od lidského těla až po životní prostředí), při studiu procesů atd. V zemědělství a potravinářství má své pevné místo jako velice operativní (měření trvá asi 2 minuty), nedestruktivní (změřené semeno lze vysít), vzorek „nekonsumující“ a přitom dostatečně přesná a při sériovém měření levná metoda.

Václav Míka, Praha

* s podporou GA ČR v rámci grantového projektu č. 503/95/1457

Tvorba kadaverínu a amoniaku činnosťou niektorých baktérií za modelových podmienok

Gabriel GREIF, Mária GREIFOVÁ, Jolana KAROVIČOVÁ

Slovak Technical University – Faculty of Chemical Technology, Bratislava, Slovak Republic

Abstract

GREIF G., GREIFOVÁ M., KAROVIČOVÁ J. (1998): Cadaverine and ammonia production by some bacteria under model conditions. Czech J. Food Sci., 16: 53–56.

Cadaverine and ammonia production was studied in meat-peptone broth at a temperature of 20 °C as resulting from the activity of bacterial strains from the family *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*) and *Pseudomonas fluorescens*. Initial densities of microorganisms were 10^5 KTJ.cm⁻³. The highest concentrations of cadaverine were determined in *Escherichia coli* in 48 h (260 µg.cm⁻³) and *Proteus mirabilis* in 72 h (277 µg.cm⁻³). Ammonia concentration in 72 h was highest in *Serratia marcescens* (401 µg.cm⁻³) and *Pseudomonas fluorescens* (605 µg.cm⁻³). Relatively high correlations (0.95–0.99) were calculated for the relation of cadaverine concentration to the initial density of microorganisms (KTJ. cm⁻³) (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*) and/or to biomass amount (expressed in form of turbidity).

cadaverine; ammonia; *Escherichia coli*; *Proteus mirabilis*; *Serratia marcescens*; *Pseudomonas fluorescens*

Súhrn

GREIF G., GREIFOVÁ M., KAROVIČOVÁ J. (1998): Tvorba kadaverínu a amoniaku činnosťou niektorých baktérií za modelových podmienok. Czech J. Food Sci., 16: 53–56.

Zamerali sme sa na produkciu kadaverínu a amoniaku kmeňmi baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*) a pseudomonády (*Pseudomonas fluorescens*) v mäsopeptónovom bujónu pri teplote 20 °C. Vstupné denzity mikroorganizmov boli 10^5 KTJ.cm⁻³. Najvyššie koncentrácie kadaverínu boli zistené u *Escherichia coli* po 48 h (260 µg.cm⁻³) a *Proteus mirabilis* po 72 h (277 µg.cm⁻³). Koncentrácia amoniaku po 72 h bola najvyššia u *Serratia marcescens* (401 µg.cm⁻³) a *Pseudomonas fluorescens* (605 µg.cm⁻³). Pri sledovaní závislosti koncentrácie kadaverínu od vstupnej denzity mikroorganizmov (KTJ.cm⁻³) (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*), resp. od množstva biomasy (vyjadrené vo forme zákalu) boli zistené pomerne vysoké korelácie (0,95–0,99).

kadaverín; amoniak; *Escherichia coli*; *Proteus mirabilis*; *Serratia marcescens*; *Pseudomonas fluorescens*

Pôsobením fyzikálnych, chemických a biochemických faktorov počas produkcie a skladovania potravín dochádza k vzniku cudzorodých látok, ktoré sú z hľadiska zdravotne bezchybnej požívateľiny nešpecifické, resp. necharakteristické. Do tejto skupiny látok patria vo výžive hygienicky významné amíny a amoniak ako dôsledok biochemických procesov spôsobených mikroorganizmami (Brink ten et al., 1990; Silla Santos, 1996). Tieto látky (pri určitých koncentráciách) môžeme považovať za chemické ukazovatele mikrobiálnej kontaminácie požívateľiny.

Produkcia amínov a amoniaku baktériami je značne ovplyvnená teplotou prostredia vzhľadom na skutočnosť, že ovplyvňuje nielen rast mikroorganizmov, ale aj aktivitu dekarboxylačných enzýmov (Ratkovsky et al., 1983;

Zwietenling et al., 1991; Greif, Greifová, 1997). Doplnkové faktory (prítomnosť kyslíka, hodnota pH prostredia, obsah glukózy, redox potenciál) tiež značne vplyvajú na rast mikroorganizmov a produkciu amínov a amoniaku (Hálaš et al., 1994).

Putrescín, kadaverín, histamín, spermin a spermidín boli identifikované v rozkladajúcich sa rybách. Mietz a Karas (1978) definovali index chemickej kvality tzv. BAI index pre posúdenie stupňa rozkladu mäsa morských rýb ako pomer obsahov (v mg.kg⁻¹) (putrescín + kadaverín + histamín) : (1 + spermidín + spermin).

Aeróbne skladovanie čerstvého mäsa vedie k rozdielnym koncentráciám kadaverínu a putrescínu. Sumu koncentrácií týchto amínov použili Slemr a Beyerman (1985) na hodnotenie kvality bravčového a hovädzieho

mäsa a na základe obsahu sledovaných diaminov rozdelili bravčové mäso do troch skupín. Podľa ich výsledkov skazené bravčové mäso obsahovalo okolo $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ priemernej hodnoty sumy (kadaverín + putrescín).

Vzťah medzi zložením mikroflóry a obsahom biogénnych aminov bol podrobne študovaný vo fermentovaných potravinách, ako sú napr. syry (Joosten, Northolt, 1987), kyslá kapusta (Mayer, Pause, 1972), hovädzie mäso (Sayem-el-Daher et al., 1984), pivo (Zee et al., 1981).

Cieľom práce bolo poukázať na produkciu kadaverínu a amoniaku baktériami z čeľade *Enterobacteriaceae* a pseudomonády, ako aj poukázať na koreláciu medzi koncentráciou kadaverínu a počtom buniek, resp. množstvom biomasy.

MATERIÁL A METÓDY

Použité mikroorganizmy

Escherichia coli (izolovaná z čerstvého kravského mlieka, potvrdená biochemickými testami)

Pseudomonas fluorescens (izolovaný z čerstvej kapustovej šťavy, potvrdený biochemickými testami)

Proteus mirabilis CCM 1944

Serratia marcescens ATCC 2222

Príprava inokula

Z dvadsaťhodinovej kultúry uchovanej na šikmom GTK agare bola pripravená suspenzia baktérií vyšetřovaného kmeňa vo fyziologickom roztoku ($0,85\% \text{ NaCl} + 0,1\% \text{ pepťón}$) o požadovanej hustote ($3 \times 10^8 \text{ KTJ} \cdot \text{cm}^{-3}$), ktorá zodpovedá I. zákalovému stupňu Mc Farlandovej stupnice. Desiatkovým riedením bolo pripravené inokulum, ktoré bolo aplikované (1 cm^3 do 10 cm^3 sterilného mäsopeptónového bujónu (MPB) v skúmavkách. Stacionárna kultivácia prebiehala pri teplote 20°C .

Stanovenie počtu mikroorganizmov

Počty mikroorganizmov ($\text{KTJ} \cdot \text{cm}^{-3}$) pre *Proteus mirabilis* a *Escherichia coli* boli stanovené kultivačnou metódou (rozterom $0,2 \text{ cm}^3$ na Petriho miske) na GTK agare.

Stanovenie amoniaku

Amoniak bol stanovený mikrodifúznou metódou v Conwayovej nádobke (David et al., 1981)

Stanovenie aminov

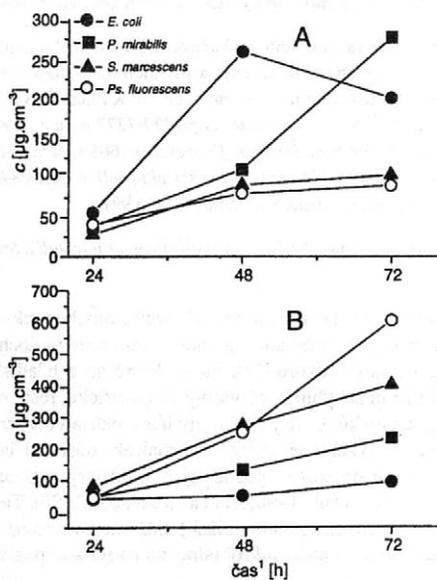
Aminy boli stanovené po odstredení ($9\,000 \text{ min}^{-1}$) v supernatante vo forme dansylderivátov metódou HPLC (Greif et al., 1997)

VÝSLEDKY A DISKUSIA

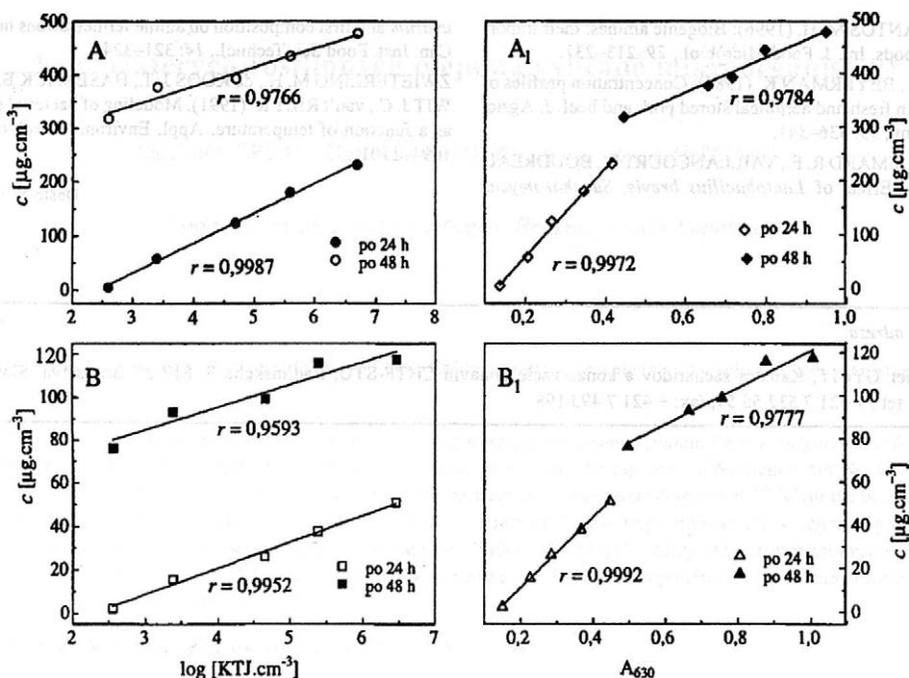
Namerané výsledky (obr. 1A) ukazujú, že nami sledované kmene druhov baktérií *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens* a *Pseudomonas fluorescens* sú schopné produkovať enzým lyzín-dekarboxylázu (L-lyzín karboxy-lyáza; EC 4.1.1.18) podieľajúci sa na tvorbe kadaverínu v MPB. Okrem toho sú schopné produkovať aj

deaminázy (napr. L-arginín amidohydroláza; EC 3.5.3.1), podieľajúce sa na deaminácii arginínu, čoho dôkazom je prítomnosť amoniaku vo vzorkách (obr. 1B). Baktérie s vyššou proteolytickou aktivitou (*Serratia marcescens* a *Pseudomonas fluorescens*) produkujú viac amoniaku a menej kadaverínu, baktérie s nižšou proteolytickou aktivitou (*Escherichia coli* a *Proteus mirabilis*) menej amoniaku a viac kadaverínu (obr. 1). Ich prítomnosť a pomnoženie sa na substrátoch s vyšším obsahom aminokyselín (voľných) a bielkovín (mäso, ryby, bielkovinové hydrolyzáty) môže spôsobiť významnú produkciu kadaverínu, ale aj amoniaku. Z výsledkov uvedených na obr. 1 vystáva otázka prečo nebol obdobne sledovaný aj putrescín. Tu môže byť odpoveďou pomerne nízka koncentrácia putrescínu po 24 hodinách kultivácie ($4\text{--}16 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$) ako aj skutočnosť, že putrescín je tvorený jednak priamo dekarboxyláciou ornitínu, ale aj nepriamo z arginínu cez agmatín, resp. citrulín a ornitín.

Významnosť sledovania koncentrácií kadaverínu produkovaného kmeňmi *Escherichia coli* a *Proteus mirabilis* vyplýva z pomerne vysokého zastúpenia týchto mikroorganizmov v surovinách rastlinného ($10^3\text{--}10^8 \text{ KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) a živočíšneho pôvodu ($10^2\text{--}10^5 \text{ KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$). Pre sledovanie koncentrácií kadaverínu bol použitý mäsopeptónový bujón naočkovaný bakteriálnou kultúrou v denzitách $10^2\text{--}10^6 \text{ KTJ} \cdot \text{cm}^{-3}$ a kultivovaný pri teplote 20°C . Závislosť medzi vstupnou denzitou mikroorganizmov a koncentráciou kadaverínu po 24 a 48 hodinách pri teplote kultivácie 20°C je uvedená na obr. 2. Nami sledované kmene mikro-



1. Produkcia kadaverínu (A) a amoniaku (B) vybranými kmeňmi mikroorganizmov v mäsopeptónovom bujóne pri teplote 20°C – Cadaverine (A) and ammonia (B) production by selected microorganism strains in meat-peptone broth at 20°C



2. Korelácia medzi vstupnou koncentráciou mikroorganizmov resp. absorpciou pri $\lambda = A_{630}$ a koncentráciou kadaverínu pre *Escherichia coli* (A, A₁) a *Proteus mirabilis* (B, B₁), kultivovaných v MPB pri teplote 20 °C – Correlations between initial concentration of microorganisms and/or absorbance at $\lambda = A_{630}$ and cadaverine concentration for *Escherichia coli* (A, A₁) and *Proteus mirabilis* (B, B₁) cultured in MPB at a temperature of 20 °C

organizmov sú schopné produkovať enzým lyzín-dekarboxylázu pri teplote 20 °C. Aj napriek tomu, že optimálna teplota pre lyzín-dekarboxylázu je 30–35 °C, dochádza k produkcii kadaverínu a jeho koncentrácie nie sú zanedbateľné. Koncentrácia vytvoreného kadaverínu kmeňmi *Escherichia coli* a *Proteus mirabilis* pri daných podmienkach kultivácie je priamo úmerná množstvu biomasy (vyjadrenej vo forme zákalu) po 24 a 48 hodinách, ako aj vstupnej koncentrácii buniek (KTJ·cm⁻³).

Na základe týchto skúseností, ale aj z ďalších výsledkov z našich laboratórií sa domnievame, že pri posudzovaní čerstvosti mäsa je účelné neorientovať sa len na limitujúce koncentrácie amoniaku, ale sledovať aj prítomnosť aminov, predovšetkým kadaverínu, a pri mikrobiologických vyšetreniach vstupných surovín robiť aj analytické vyšetrenia na mikrobiálne produkty, aby bolo možné dať adekvátnu odpoveď na kvalitu vstupnej suroviny.

Literatúra

BRINK B. ten, DAMINK C., JOOSTEN H. M. L. J., HUIS in't VELD J. H. J. (1990): Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 11: 73–84.
 DAVÍDEK J., HRDLIČKA J., KARVÁNEK M., POKORNÝ J., SEIFERT J., VELÍŠEK J. (1981): Laboratorní příručka analýzy potravin. Praha, SNTL: 718 s.

GREIF G., GREIFOVÁ M. (1997): Analytické hodnotenie mikrobiálnych produktov – biogénne aminy. In: Zbor. Predn. XI. Medzinár. Konf. o analytických metódach v potravinárstve, LABORALIM 97, 5.–6. 2. 1997, Banská Bystrica: 58–62.

GREIF G., GREIFOVÁ M., DRDÁK, M. (1997): Stanovenie biogénnych aminov v potravinách živočíšneho pôvodu metódou HPLC. *Potr. Vědy*, 15: 119–129.

HALÁSZ A., BARÁTH Á., SIMON-SARKADI L., HOLZAPFEL W. (1994): Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Sci. Technol.*, 2: 42–49.

JOOSTEN H. M. L. J., NORTHOLT M. D. (1987): Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese. 2. Decarboxylative properties of some non-starter bacteria. *Neth. Milk Dairy J.*, 41: 259–280.

MAYER K., PAUSE, G. (1972): Biogene amine in Sauerkraut. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 5: 108–112.

MIETZ J. L., KARMAS E. (1978): Polyamine and histamine content of rockfish, salmon, lobster and shrimps as an indicator of decomposition. *J. AOAC*, 61: 139–146.

RATKOWSKY D. A., LOWRY R. K., McMEEKIN T. A., STOKES A. N., CHANDLER R. E. (1983): Model for bacterial culture growth rate throughout the entire biokinetic temperature range. *J. Bacteriol.*, 154: 1222–1226.

SAYEM-EL-DAHER N., SIMARD R. E., FILLION J., ROBERGE A. G. (1984): Extraction and determination of biogenic amines in ground beef and their relation to microbial quality. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 17: 20–24.

SILLA SANTOS M. H. (1996): Biogenic amines: their importance in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 29: 213-231.

SLEMR J., BEYERMAN K. (1985): Concentration profiles of diamines in fresh and aerobical stored pork and beef. *J. Agric. Food Chem.*, 33: 336-341.

ZEE J. A., SIMARD R. E., VAILLANCOURT R., BOUDREAU A. (1981): Effect of *Lactobacillus brevis*, *Saccharomyces*

uvarum and first composition on amine fermentations in beers. *Can. Inst. Food Sci. Technol.*, 14: 321-324.

ZWIETTERLING M. H., de KOOS J. T., HASENACK B. E., de WIT J. C., van't RIET K. (1991): Modeling of bacterial growth as a function of temperature. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57: 1094-1101.

Došlo 8. 9. 1997

Kontaktní adresa:

Ing. Gabriel Greif, Katedra sacharidov a konzervácie potravín CHTF-STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika, tel.: + 421 7 532 55 59, fax: + 421 7 493 198

Vliv některých rostlinných olejů na vybrané mikroorganismy*

Vladimír ERBAN, Dana GABROVSKÁ, Slavomíra VAVREINOVÁ

Food Research Institute Prague, Prague, Czech Republic

Abstract

ERBAN V., GABROVSKÁ D., VAVREINOVÁ S. (1998): Effect of some vegetable oils on a select microorganisms. Czech J. Food Sci., 16: 57–60.

The effect of evening primrose, rape and sunflower oils on the growth of *Pseudomonas putida*, *Proteus vulgaris* and *Micrococcus luteus* at 6 and 17 °C has been studied. The 4% evening primrose oils and the rape one in Nutrient broth No 2 have higher bacteriostatic effects than the 4% sunflower oil at 6 °C. No significant differences were detected at 17 °C for the both concentrations of all the tested oils. In summary a slight bacteriostatic effect of the evening primrose oil is depending on the type of microorganism, cultivating temperature and oil concentration. With respect to applicability of the evening primrose oil concentration (1–2%) in foods, from the sensorial acceptability (Vavreínová, 1995), the importance of the evening primrose oil as a bacteriostatic additive is imponderable.

evening primrose oil; vegetable oil; bacteriostatic effect

Souhrn

ERBAN V., GABROVSKÁ D., VAVREINOVÁ S. (1998): Vliv některých rostlinných olejů na vybrané mikroorganismy. Czech J. Food Sci., 16: 57–60.

K prokázání bakteriostatického účinku pupalkového oleje byl sledován jeho vliv na růst mikroorganismů *Pseudomonas putida*, *Proteus vulgaris* a *Micrococcus luteus* v živném bujónu č. 2 při teplotách 6 a 17 °C a porovnán s účinky řepkového a slunečnicového oleje. Při teplotě 6 °C médium se 4 % pupalkového nebo řepkového oleje vykazovalo vyšší bakteriostatický efekt než stejné médium se 4 % slunečnicového oleje. Při teplotě 17 °C nebyly mezi jednotlivými oleji pozorovány významné rozdíly. Je možné konstatovat, že mírný bakteriostatický vliv pupalkového oleje je závislý na typu mikroorganismu, teplotě a koncentraci oleje. Vzhledem ke koncentracím (1–2%) pupalkového oleje aplikovaným z hlediska senzorickej přijatelnosti (Vavreínová, 1995) do potravin je jeho význam jako bakteriostatického přídatku problematický.

pupalkový olej; rostlinný olej; bakteriostatický vliv

Vztahy mezi potravinářskými oleji a mikroorganismy jsou velmi významné. Mikroorganismy negativně ovlivňují stabilitu olejů. Látky vznikající během kažení potravinářských olejů jsou potenciálně zdravotně závadné (Hrubý et al., 1994, 1995). Různé typy olejů však ovlivňují růstové charakteristiky mikroorganismů (Himejima, Kubo, 1990; Halpin-Dohnalek, Marth, 1990; Lock, Board, 1996).

Růstové charakteristiky *Staphylococcus aureus* byly studovány v syrovátce, mléku, smetaně a másle. Některé kmeny produkovaly enterotoxin A ve sladké smetaně obsahující 18 nebo 32 % tuků. Smetanovo-olejová emulze (obsahující 35 % tuku složeného z 60 % kukuřičného oleje a 40 % mléčného tuku) a máslo stloukané z této emulze

neumožňovaly růst většiny kmenů při všech inkubačních teplotách (Halpin-Dohnalek, 1989; Halpin-Dohnalek, Marth, 1990). Také růst salmonel je inhibován v přítomnosti olejů. Rychlost odumírání salmonel se liší podle typu oleje: nejrychleji odumírají v olivovém oleji s česnekem a bazalkou, následuje olej ze sóji, arašídů, slunečnice, lískových ořechů a směsného olivového oleje (Lock, Board, 1996).

Byl rovněž studován vliv rostlinných tuků na kažení masa. Z výsledků vyplývá, že celkový obsah rostlinného tuku významným způsobem neovlivňuje počty bakterií v syrovém hovězím masě doplněném hydrogenovaným sójovým olejem s jodovým číslem 70. Avšak s dobou skladování byly významně ($P < 0,001$) ovlivněny jak standard-

*Práce byla vykonána s podporou NAZV (grant č. EP 096000 6255).

ni celkové počty (SPC), tak psychrotrofní celkové počty (PPC). Počty bakterií se s dobou skladování zvyšovaly. Ve všech studovaných případech bylo PPC vyšší než SPC, což podle autorů naznačuje, že v syrovém hovězím masu převládá psychrotrofní mikroflóra (Tibin, Melton, 1990).

Rostlinné oleje mají také antimykotické a fungistické účinky; například řepkový olej je obsažen v postřikových přípravcích BIOOL a BIOTON firmy AGRO*BIO Rokycany.

Antimikrobiální aktivita se přisuzuje fenolickým složkám olejů. Himemima a Kubo (1991) izolovali 16 fenolických složek z oleje vyrobeného z kešu oříšků. Většina z nich vykazovala potenciální antimikrobiální aktivitu proti gram-pozitivním bakteriím. *Streptococcus mutans*, jedna z bakterií podílejících se na kažení zubů, a *Propionibacterium acnes* způsobující akné byly k těmto látkám jedny z nejcitlivějších.

Současný potravinářský výzkum se zajímá o pupalkový olej jako o dobrý zdroj značného množství přírodní kyseliny γ -linolenové (Carter, 1988; Koblíková et al., 1990). Informace o možném inhibičním účinku na mikroorganismy nebyly zatím publikovány.

Cílem naší studie bylo analyzovat možnost využití pupalkového oleje také proti kažení potravin způsobenému saprofytickými mikroorganismy. Bylo provedeno srovnání s řepkovým olejem, jehož ochranné vlastnosti byly popsány, a slunečnicovým olejem jako standardním kuchyňským olejem. Teploty byly voleny tak, aby simulovaly teploty chladničky a transportní teploty.

MATERIÁL A METODY

Bakteriální kmeny

Proteus vulgaris (DAM-3107), *Pseudomonas putida* (RIFFS-B3) a *Micrococcus luteus* (Lactoflora 231) byly udržovány na šikmém agaru (Nutrient Agar No2, Oxoid) o pH 7 a jednou za tři měsíce byly přeočkovány.

Výchozí kultury pro inokulum byly připraveny inokulací kličky do 5 ml média Nutrient broth No2 (Himedia) o pH 7 a inkubovány při 25 °C 16 hodin na reciproké třepačce. Ve všech případech bylo inokulum ředěno tak, aby výchozí koncentrace bakterií byla přibližně 10^3 CPM/ml.

Média

Pro kultivace byla použita živná média Nutrient Agar No2 pH 7 (Oxoid) a Nutrient Broth No2 pH 7 (Himedia). Studované emulze byly získány emulzifikací různého množství olejů ve sterilním médiu pomocí dávkovací injekční stříkačky (Sartorius SM 16685) a následnou pasterací 20 min při 65 °C. Řepkový a slunečnicový olej byly standardní tržní oleje. Pupalkový olej byl získán z Výzkumného ústavu farmakologie a biochemie v Praze. Výsledné koncentrace všech olejů v médiu byly 2 nebo 4 %.

Skladovací pokusy

Pasterovaná emulze byla inokulována odpovídajícím množstvím inokula a protřepána. Vzorky byly inkubovány při zvolených teplotách a každý den protřepávány. Počty bakterií byly stanovovány výsevem na živný agar.

VÝSLEDKY A DISKUSE

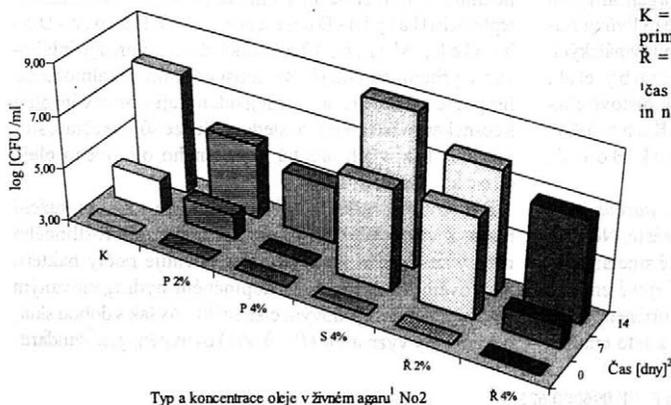
Z výsledků pokusů vyplývá minimální vliv olejů při daných koncentracích na růstové charakteristiky sledovaných mikroorganismů. U *Proteus vulgaris* a *Pseudomonas putida* je bakteriostatický efekt olejů významnější při 6 °C než při 17 °C (obr. 1–4). Růst *Micrococcus luteus* je přidavkem oleje ovlivňován pouze při 6 °C.

Z použitých olejů má pupalkový olej vyšší bakteriostatický efekt než řepkový při 4% koncentraci oleje při obou teplotách; při 17 °C je rozdíl minimální. Slunečnicový olej nevykazuje významný vliv na růst studovaných mikroorganismů. Nižší bakteriostatický efekt slunečnicového než řepkového oleje je ve shodě s výsledky pro salmonely, které uveřejnili Lock a Board (1996). Odchylkou je vliv slunečnicového oleje na *Proteus vulgaris*.

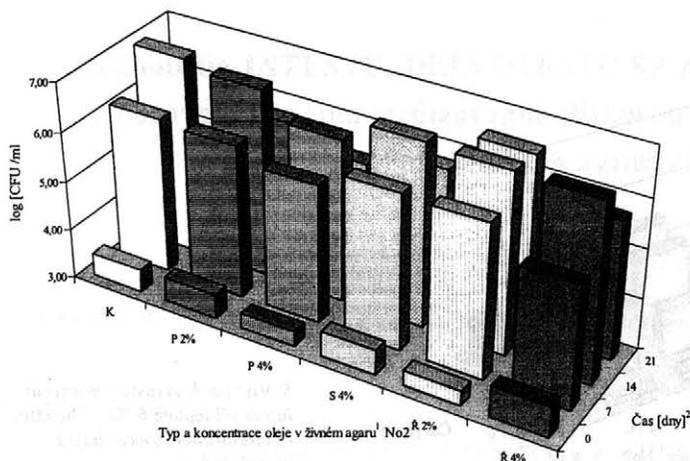
Vysvětlivky k obr. 1–5 – Explanation for Fig. 1–5:

K = kontrola – control; P = pupalkový olej – evening primrose oil; S = slunečnicový olej – sunflower oil; Ř = řepkový olej – rape oil

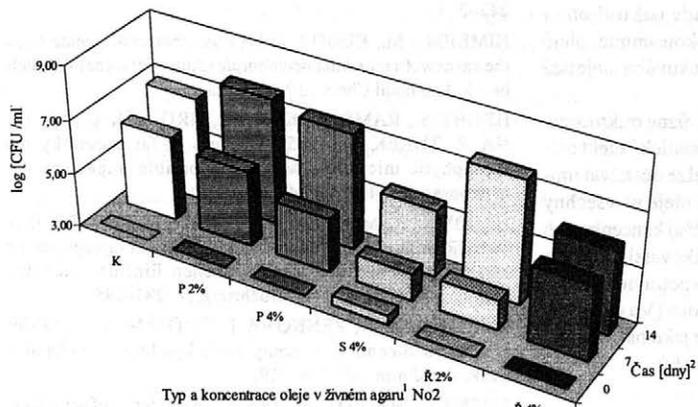
¹čas (dny) – time (days); ²oil type and concentration in nutrient broth No2;



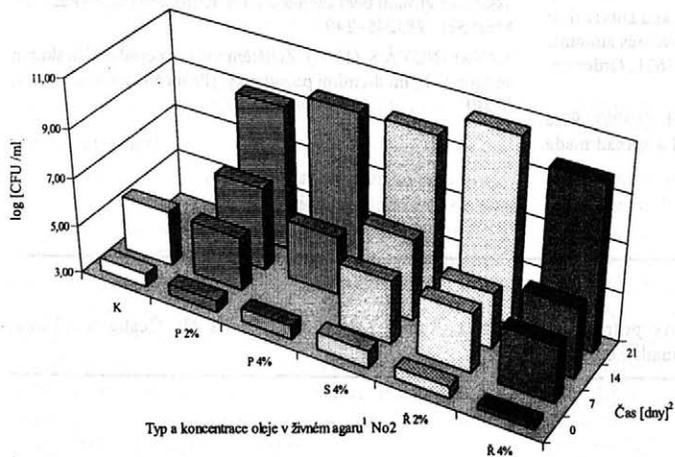
1. Vliv olejů na růst *Pseudomonas putida* při teplotě 6 °C – The effect of oils on *Pseudomonas putida* growth at 6 °C



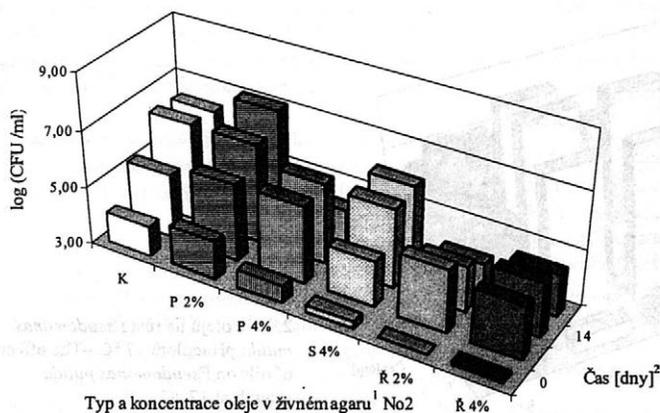
2. Vliv olejů na růst *Pseudomonas putida* při teplotě 17 °C – The effect of oils on *Pseudomonas putida* growth at 17 °C



3. Vliv olejů na růst *Proteus vulgaris* teplotě při 6 °C – The effect of oils on *Proteus vulgaris* growth at 6 °C



4. Vliv olejů na růst *Proteus vulgaris* při teplotě 17 °C – The effect of oils on *Proteus vulgaris* growth at 17 °C



5. Vliv olejů na růst *Micrococcus luteus* při teplotě 6 °C – The effect of oils on *Micrococcus luteus* growth at 6 °C

Při obou sledovaných teplotách se bakteriostatický účinek více projevuje u *Pseudomonas putida* než u *Proteus vulgaris*. *Micrococcus luteus* je při 4% koncentraci olejů citlivější k bakteriostatickému účinku řepkového oleje než k oleji pupalkového.

Na základě studia vlivu tří olejů na tři různé mikroorganismy je možné konstatovat, že bakteriostatický efekt olejů se pro různé mikroorganismy liší a nelze očekávat univerzální bakteriostatický efekt určitého oleje na všechny mikroorganismy, zejména v nízkých (1–2%) koncentracích a při vyšších teplotách. Vzhledem k aplikovatelným koncentracím pupalkového oleje (1–2%) do potravin doporučených z hlediska senzoričké přijatelnosti (Va v r e i n o v á, 1995) je význam pupalkového oleje jako bakteriostatického přídatku do potravin problematický.

Literatura

- CARTER J. P. (1988): Gamma-linolenic acid as a nutrient. Food Technol., 42: 72.
- HALPIN-DOHNALEK M. I. (1989): Growth and survival of *Staphylococcus aureus* in dairy products with various amounts of milk fat. Dissert. Abstr. Inter. B, 49: 4620–4621; Order no. DA8901167: 324pp.
- HALPIN-DOHNALEK M. I., MARTH E. H. (1990): Fate of *Staphylococcus aureus* in an emulsion and a spread made

of milk fat and vegetable fat. Lebensm.-Wiss. Technol., 23: 242–245.

HIMEJIMA M., KUBO I. (1991): Antibacterial agents from the cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) nut shell oil. J. Agr. Food Chem., 39: 418–421.

HRUBÝ S., RAMBOUSKOVÁ J., HRIVNAK D., ŠPELINA V., TUREK B. (1995): Changes of fat caused by the saprophytic microflora and their possible impact on the macroorganism. Hygiena, 40: 99–104.

HRUBÝ S., RAMBOUSKOVÁ J., HRIVNAK D., ŠPELINA V., TUREK B. (1994): Fettveränderungen durch saprophytische Mikroorganismen und ihre möglichen Einflüsse auf den menschlichen Organismus. Ernährung, 18: 283–285.

KOBLICOVÁ Z., PĚNKOVÁ I., TROJÁNEK J. (1990): *Oenothera Biennis* L. – cenný zdroj kyseliny γ -linolenové. Českoslov. Farm., 39: 315–319.

LOCK J. L., BOARD R. G. (1996): The influence of acidulants and oils on autosterilization of home-made mayonnaise. Food Res. Int., 28: 569–572.

TIBIN I. M., MELTON C. C. (1990): Some microbiological assays of ground beef blended with hydrogenated soybean oil. Meat Sci., 28: 245–249.

VAVREINOVÁ S. (1995): Zajištění výživy populačních skupin se specifickými dietními požadavky. [Průběžná zpráva.] Praha, VÚPP.

Došlo 17. 6. 1997

Kontaktní adresa:

RNDr. Vladimír Erban, Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10, Česká republika, tel.: +420 2 702 331, fax: +420 2 701 983, e-mail: v.erman@vupp.cz

Hodnotenie INTESTU, DELVOTESTU SP A PENZYMU S 100 v porovnaní so štandardizovanou diskovou difúznou metódou na detekciu β -laktámových antibiotík v mlieku

Bernadetta HOZOVÁ, Daniela HUDECOVÁ, Marta GREJTÁKOVÁ

Slovak Technical University – Faculty of Chemical Technology, Bratislava, Slovak Republic

Abstract

HOZOVÁ B., HUDECOVÁ D., GREJTÁKOVÁ M. (1998): Evaluation of INTEST, DELVOTEST SP and PENZYME S 100 in comparison with a standardized disk diffusion method for detection of β -lactam antibiotics in milk. Czech J. Food Sci., 16: 61–64.

The objective of the paper was to check and compare the sensitivity of four detection systems used parallelly: disk diffusion method, INTEST, DELVOTEST SP and PENZYME S 100 with respect to detection of selected β -lactam antibiotics in milk (penicillin G, amoxycillin, oxacyllin, cefotaxim, cefuroxim, cephamandol). The sensitivity of applied tests was found to be different. High sensitivity and satisfactory correlation of the results (PNC G, amoxycillin, oxacillin) was achieved in most cases by the use of three rapid methods (INTEST, DELVOTEST SP, PENZYME S 100) in comparison with a disk diffusion method of lower sensitivity. Experimentally determined detected limits for cephalosporin antibiotics indicate higher sensitivity of DELVOTEST SP and PENZYME S 100 if used as a diffusion method.

β -lactam antibiotics; INTEST; DELVOTEST SP; PENZYME S 100; disk diffusion method

Súhrn

HOZOVÁ B., HUDECOVÁ D., GREJTÁKOVÁ M. (1998): Hodnotenie INTESTU, DELVOTESTU SP A PENZYMU S 100 v porovnaní so štandardizovanou diskovou difúznou metódou na detekciu β -laktámových antibiotík v mlieku. Czech J. Food Sci., 16: 61–64.

Cieľom práce bolo overenie a porovnanie citlivosti štyroch detekčných systémov použitých vedľa seba: diskovej difúznej metódy, INTESTU, DELVOTESTU SP a PENZYMU S 100 na vybrané β -laktámové antibiotiká v mlieku (penicilín G, amoxycilín, oxacilín, cefotaxim, cefuroxim, cefamandol). Zistilo sa, že citlivosť aplikovaných testov je rozdielna. Vysoká citlivosť a vo väčšine prípadov aj dobrá korelácia výsledkov (PNC G, amoxycilín, oxacilín) sa dosiahla pri použití troch rýchlych metód (INTEST, DELVOTEST SP, PENZYME S 100) oproti menej citlivej štandardizovanej diskovej difúznej metóde. Experimentálne zistené detekčné limity pre cefalosporínové antibiotiká poukazujú tiež na vyššiu citlivosť DELVOTESTU SP a PENZYMU S 100 ako difúznej metódy.

β -lactam antibiotics; INTEST; DELVOTEST SP; PENZYME S 100; disková difúzna metóda

Pri technologickom procese spracovania mlieka ohrozuje prítomnosť inhibičných látok jeho základnú vlastnosť, a to kysaciu schopnosť. Z hľadiska legislatívy platnej v zahraničí (EEC, 1992) i u nás (STN 57 0529) je prítomnosť antibiotík, čistiacich a dezinfekčných prostriedkov a iných látok antimikrobiálneho charakteru nežiaduca a také mlieka musia byť vyradené z nákupu ako neštandardné. Je preto dôležité pravidelne sledovať frekvenciu ich výskytu a podľa toho mlieko ďalej spracovávať. Rozhodujúcim kritériom tohto posudzovania sú detekčné limity testov (EEC, 1992; Suhrenová, 1995).

Na stanovenie antimikrobiálnych látok v mlieku slúžia viaceré metódy s rôznym prahom citlivosti – jednak štandardizované klasické, ale aj zdokonalené na mikrodoštičkách a tiež špecializované metódy pre rýchlu a spoľahlivú diagnostiku (ELISA, RIA, EIA) (Barker, Long, 1994). V poslednom období sa čoraz častejšie stretávame s aplikáciou racionalizovaných metód stanovenia inhibičných látok v mlieku.

Pre široké uplatnenie v praxi, najmä pri veľkom počte spracovávaných vzoriek, sa uplatňujú praktické testy na losť je vyjadrená vzťahom:

va do rúk pripravený testovací systém a analýza je technicky nenáročná. V Európe sa komerčne v rôznych modifikáciách vyrábajú testy, ktoré sa od seba výrazne nelíšia, napr. v Čechách sa vyrába INTEST (Mlékárenský průmysl, Klatovy), v Nemecku BRT-test (fy Enterotox), v Poľsku FDT-ABIOTEST a už tradične je používanie DELVOTESTU holandskej firmy Gist Brocades, PENZYMU testu belgickej firmy Hersteller UCB Bio-products, atď.

V nadväznosti na našu predchádzajúcu prácu (H o z o v á et al., 1995) sme sa zamerali na overenie a porovnanie citlivosti štyroch detekčných systémov vedľa seba (disková difúzna metóda, INTEST, DELVOTEST SP, PENZYMU S 100) na širšom spektre β -laktámových antibiotík (penicilín, amoxicilín, oxacilín a cefalosporíny – cefotaxim, cefuroxim, cefamandol), ktorých použitie najčastejšie prichádza do úvahy pri liečbe mastitíd v klinickej veterinárnej praxi (G ö r n e r, 1991; A u r e l i et al., 1995; S a r a n, 1995). Dosiahnuté výsledky sme porovnávali navzájom, ako aj s metodologickými poznatkami v literatúre.

MATERIÁL A METÓDY

Použitý kmeň

Bacillus stearothermophilus var. *calidolactis* C 953 (zo zbierky mikroorganizmov VÚV v Bratislave), pred použitím pomnožený na GTK agare a nasledovne v tekutej pôde rovnakého zloženia (výrobca Imuna, Šarišské Michalany, SR). Dvadsaťštyrihodinové inokulum obsahovalo poriadkovo 10^8 buniek/ml.

Antibiotiká a použité koncentračné rozmedzia

- procain penicilín G v práškovej forme (Biotika, a.s. Slovenská Ľupča, SR) (0,001–0,2 IU/ml);
- amoxicilín v tobolkách (Lek d.d. Ljubljana, Slovinsko) (0,05–0,6 $\mu\text{g/ml}$);
- oxacilín v tobolkách (Léčiva Praha, ČR) (0,05–1,0 $\mu\text{g/ml}$);
- cefotaxim (sodná soľ) v práškovej forme (fa Roussel, Francúzsko) (0,1–1,0 $\mu\text{g/ml}$);
- cefuroxim (sodná soľ) v práškovej forme (fa Glaxo, Anglicko) (0,3–1,2 $\mu\text{g/ml}$);
- cefamandol (naftát) v tobolkách (fa Lilly France SA, Francúzsko) (0,1–1,0 $\mu\text{g/ml}$).

Uvedené koncentrácie antibiotík boli pripravené v rekonštituovanom sušenom mlieku (Medmilk, a.s., Veľký Meder, SR) riedením sterilnou destilovanou vodou (1 : 9). Podľa odporúčania IDF (1991) a firmy Mlékárenský průmysl, Klatovy bolo pH rekonštituovaného mlieka viac ako 6; bola vykonaná aj tepelná inaktivácia prirodzených inhibítorov počas 5 min pri 80 °C. Ako kontrola bolo použité rekonštituované sušené mlieko bez antibiotík.

Použitie metódy

1. Difúzna disková metóda (STN 57 0531).
2. INTEST (0-96/6x16) a DELVOTEST SP

Princíp stanovení bol popísaný v predchádzajúcom príspevku (H o z o v á et al., 1995).

mikrodoštičkách (ampulkách), pri ktorých užívateľ dostá 3. PENZYMU S 100

Metóda je založená na reakcii DD-karboxypeptidázy, ktorá reaguje s β -laktámovými antibiotikami (dvojkroková procedúra –7,5 + 15 min/47 °C). Ak sa v mlieku nenachádzajú antimikrobiálne látky, enzým zostáva plne aktívny, čo sa prejaví ružovou farbou. V opačnom prípade bude enzým kompletne inaktívovaný a farebná reakcia nebude vyvolaná. Výsledok možno odčítať do 20 min.

4. Výpočtové metódy

Regresná analýza s použitím metódy najmenších štvorcov (E c k s c h l a g e r et al., 1980), kde lineárna závis-

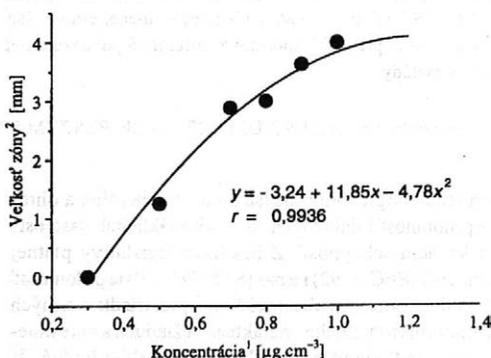
$$y = A_0 + A_1x + A_2x^2$$

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tab. I uvádzame pre porovnanie výsledkov experimentálnej práce prehľad autorov, použitých metód a detekčné limity príslušných β -laktámových antibiotík.

Tab. II zhrňuje experimentálne zistené detekčné limity uvedených antibiotík porovnaním štyroch stanovení vedľa seba: disková difúzna metóda (DDM), INTEST, DELVOTEST SP a PENZYMU S 100 (výsledky sú priemerom najmenej troch stanovení). Príklad grafického vyjadrenia závislosti (DDM) pomocou regresnej analýzy (analytická čiara pre cefuroxim) je na obr. 1.

Detekčný limit pre penicilín (0,005 IU/ml) dosiahnutý pomocou DDM (tab. II) korešponduje s detekčnými limitmi zistenými inými autormi (R y š á n e k, S c h l e g e l o v á, 1993) alebo deklarovanými príslušnou firemnou literatúrou (0,004–0,005 IU/ml) (tab. I). Taktiež zapadá do rozmedzia maximálnych prípustných množstiev reziduí inhibičných látok v mlieku (MRL) udaných IDF (1991) a EEC (1992), t. j. 0,004 $\mu\text{g/ml}$ (S u h r e n o v á et al., 1996). Nami dosiahnuté detekčné limity pomocou INTESTU, DELVOTESTU SP a PENZYMU S 100 sú dokonca omnoho nižšie (0,001–0,002 IU/ml), než aké sa dosiahli pomocou DDM.



¹concentration; ²zone area

1. Kalibračná čiara pre cefuroxim – Analytic curve for cefuroxim concentration

I. Porovnanie citlivosti testov na niektoré antibiotiká (podľa literárnych údajov) – Comparison of test sensitivity for some antibiotics (on the basis of literary data)

Antibiotikum ¹	Detekčné limity ²	Metóda ³	Literatúra ⁴
Penicilín G ⁵	0,002–0,003*	DDM	Ryšánek, Schlegelová (1993)
	0,004–0,005	DDM	Ryšánek, Schlegelová (1993)
	0,005	INTEST	Ryšánek, Schlegelová (1993)
	0,004	DELVOTEST	firemná literatúra
Amoxicilín ⁶	0,004–0,006	PENZYM	Suhrenová et al. (1996)
	0,003–0,004	PENZYM S	Suhrenová et al. (1996)
	0,003–0,004	DELVO-X-PRESS	Keizer et al. (1995)
Oxacilín ⁷	0,03–0,05	PENZYM	Suhrenová et al. (1996)
	0,02–0,03	PENZYM S	Suhrenová et al. (1996)
	0,02	BRT	Adriany et al. (1995)
	0,5–0,3	DELVOTEST SP	Aerts et al. (1995)
	0,3	INTEST	Ryšánek, Schlegelová (1993)
Cefapirín ⁸	0,005–0,007	PENZYM	Suhrenová et al. (1996)
	0,003–0,005	PENZYM S	Suhrenová et al. (1996)

* vyjadrené v IU/ml, ostatné antibiotiká v µg/ml – expressed in IU/ml, other antibiotics in µg/ml

DDM = disková difúzna metóda – disk diffusion method

¹antibiotics; ²detection limits; ³method; ⁴references; ⁵penicillin G; ⁶amoxicillin; ⁷oxacillin; ⁸cephapirin

Poukazuje to jednoznačne na vyššiu citlivosť aplikovaných rýchlych metód pri stanovení penicilínov.

Pri vyhodnení detekčných limitov amoxicilínu sa pri porovnaní s DDM ukázali citlivejšími rýchlymi metódami (detekčné limity 0,006–0,008 µg/ml), čo zapadá do rozmedzia, ktoré udávajú Suhrenová et al. (1996) a Keizer et al. (1995). Nami dosiahnutý detekčný limit pri použití DDM (0,2 µg/ml) je až 40-krát vyšší. V dostupnej literatúre sme, žiaľ, nenašli porovnávací údaj pri stanovení DDM, iba pomocou testov PENZYM a ELVO-X-PRESS.

Výsledky stanovenia oxacilínu v mlieku naznačujú, že i v tomto prípade je citlivosť INTESTU, DELVOTESTU a PENZYMU S 100 omnoho vyššia (25 až 50-krát) ako citlivosť DDM. Naše výsledky detekčných limitov sa pohybujú v intervale hodnôt uvádzaných v literatúre (tab. I).

V súvislosti s hodnotením cefalosporínových antibiotík v dostupnej literatúre takmer absentujú údaje o dosiahnutí detekčných limitov, to znamená, že naše výsledky sú istým doplnením mozaiky poznatkov v danej problematike. Hodnoty detekčného limitu pre cefotaxim, ktorý bol z technických príčin (nedostatok mikrodoštičiek INTEST) stanovený len pomocou troch testov, sa pri použití rýchlych metód výrazne od seba neodlišovali (0,02 a 0,07 µg/ml), na rozdiel od detekčného limitu dosiahnutého DDM (0,3 µg/ml) (tab. II).

Pri posúdení detekčných limitov cefuroximu (tab. II), dosiahnuté hodnoty dosť variujú. Najcitlivejší bol PENZYM S 100 (0,03 µg/ml), druhý v poradí DELVOTEST SP (0,1 µg/ml), ďalej DDM (0,5 µg/ml) a najmenej citlivý sa ukázal INTEST (až 0,7 µg/ml).

Dobrá korelácia výsledkov bola zaznamenaná pri skúmaní citlivosti DELVOTESTU SP a PENZYMU S 100 na cefamandol (0,002 a 0,004 µg/ml) (tab. II). Naše výsledky sú porovnateľné s údajmi, ktoré opublikovali Suhrenová et al. (1996). U DDM bola zistená – ako už vo väčšine predchádzajúcich prípadov – 50 až 100-násobne nižšia citlivosť na cefamandol (detekčný limit 0,2 µg/ml).

II. Priemerné hodnoty detekčných limitov vybraných antibiotík testovaných rôznymi metódami – Average values of detection limits for selected antibiotics tested by different methods

Antibiotikum ¹	Metóda/Detekčný limit ²			
	1	2	3	4
Penicilín G *	0,005	0,001	0,001	0,002
Amoxicilín	0,2	0,008	0,007	0,006
Oxacilín	0,5	0,02	0,01	0,01
Cefotaxim	0,3	**	0,02	0,07
Cefuroxim	0,5	0,7	0,1	0,03
Cefamandol	0,2	**	0,004	0,002

1 = disková difúzna metóda – disk diffusion method (n = 4)

2 = INTEST (0-96/x16) (n = 3)

3 = DELVOTEST SP (n = 3)

4 = PENZYM S 100 (n = 3)

* vyjadrené v IU/ml, ostatné antibiotiká v µg/ml – expressed in IU/ml, other antibiotics in µg/ml

** z technických príčin neanalyzované (nedostatok mikrodoštičiek INTEST) – not analyzed for technical reasons (lack of INTEST microplates)

¹antibiotics; ²method/detection limit

Literatúra

- ADRIANY A., MÄRTLBAUER E., ZAADHOF K. J. (1995): A modified Brilliant Black-Reduction test (BRT) with improved sensitivity. In: Proc. Symp. Residues of Antimicrobial Drugs and other Inhibitors in Milk. Kiel, Germany, 28-31 August: 39-40.
- AERTS M. M. L., BEERS H. J., HERBEN P. J. (1995): Comparative activity of nafcillin, oxacillin and cloxacillin on mastitis/metritis pathogens. Sensitivity of microbiological milk residue tests. In: Proc. Symp. Residues of Antimicrobial Drugs and other Inhibitors in Milk. Kiel, Germany, 28-31 August: 33-38.
- AURELI P., FERRINI A. M., MANNONI V. (1995): Microbial presumptive identification of sulfonamide and antibiotic residues in animal foods. In: Proc. Symp. Residues of Antimicrobial Drugs and other Inhibitors in Milk. Kiel, Germany, 28-31 August: 203-204.
- BARKER S. A., LONG A. R. (1994): Preparation of milk samples for immunoassay and liquid chromatographic screening using matrix solid-phase dispersion. *J. AOAC Int.*, 77: 848-854.
- ECKSCHLAGER K., HORSÁK I., KODEJŠ Z. (1980): Vyhodnocování analytických výsledků a metod. Praha, Alfa: 223.
- GÖRNER F. (1991): Inhibičné látky v mlieku. In: Proc. Symp. Mikrobiologický významné inhibičné a stimulujúce látky v potravinách a aktuálna problematika mikrobiológie výživy. Liblice, ČSAV 17.-19. 4.: 1-17.
- HOZOVÁ B., GREIFOVÁ M., GÖRNER F., ZEMANOVIČ J. (1995): Porovnanie citlivosti diskovej difúznej metódy, INTESTU a DELVOTESTU P pri stanovení rezíduí antibiotík v mlieku. *Potrav. Vědy*, 13: 131-137.
- KEIZER G. D., BLANKWATER Y. J., KERKHOF J. H. P. M., PARIDON P. A. (1995): DELVO-X-PRESS: Detection of β -lactam residues in 7 minutes. In: Proc. Symp. Residues of Antimicrobial Drugs and other Inhibitors in Milk. Kiel, Germany, 28-31 August: 244-246.
- RYŠÁNEK D., SCHLEGELOVÁ J. (1993): The efficiency of chemotherapeutic residues in raw and preserved milk. *Vet. Med. - Czech*, 38: 215-222.
- SARAN A. (1995): Intramammary and systemic antibiotic mastitis treatment in lactating and dry cows. In: Proc. Symp. Residues of Antimicrobial Drugs and other Inhibitors in Milk. Kiel, Germany, 28-31 August: 85-96.
- SUHRENOVÁ G. (1995): Possibilities and limitations of microbiological inhibitor tests. In: Proc. Symp. Residues of Antimicrobial Drugs and other Inhibitors in Milk. Kiel, Germany, 28-31 August: 159-171.
- SUHRENOVÁ G., REICHMUTH J., WALTE H. G. (1996): Detection of β -lactam antibiotics in milk by the Penzym-test. *Milchwissenschaft*, 51: 269-273.
- EEC (1992): Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. *O. J. Europ. Com.*, L 73: 8-14.
- IDF (1991): Detection and confirmation of inhibitors in milk and milk products. *Doc. IDF*, 258: 99.
- STN 57 0529 (1993): Surové kravské mlieko na mliekárenské oštiepenie a spracovanie. Bratislava.
- STN 57 0531 (1994): Stanovenie rezíduí antibiotík a látok inhibujúcich rast mliekárenských kultúr v mlieku a mliečnych výrobkoch. Bratislava.

Došlo 24. 7. 1997

Kontaktná adresa :

RNDr. Bernadetta Hozová, CSc., Slovenská technická univerzita, Chemickotechnologická fakulta, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika, tel.: + 421 7 5325 kl. 478, fax: + 421 7 493 198

Barva kečupů*

Ludmila PROKŮPKOVÁ, Pavla NOVOTNÁ

Food Research Institute Prague, Prague, Czech Republic

Abstract

PROKŮPKOVÁ L., NOVOTNÁ P. (1998): Ketchup colour. Czech. J. Food Sci., 16: 65–71.

Evaluation of ketchup samples by means of Hunter's system and sensory evaluation were compared during measurements. The thickness of infinite optical layer of samples was determined for light sources C and D65; it is minimally 20 mm. Baby ketchup was found to be a product with very low intensity of red colour (parameter $+a$) by sensory and instrumental evaluation. Absolute values of parameter $+a$ show large differences in the particular samples. A relationship of color convenience (scale 1–12) evaluated sensorily to the ratio $+a/+b$ was also assessed. This evaluation set aside three samples (Baby ketchup, Curry ketchup and Ketchup Hamburger) with the ratio $+a/+b$ lower than 1.8 and convenience order higher than 9. Sensory analysis was used to determine a sample with the best convenience (Ketchup Mexicano) that was used as a red colour standard.

color; ketchup; standard; sensory evaluation; colorimeter; colorant

Souhrn

PROKŮPKOVÁ L., NOVOTNÁ P. (1998): Barva kečupů. Czech. J. Food Sci., 16: 65–71.

Při měření bylo porovnáno hodnocení pomocí Hunterova systému a senzorické hodnocení vzorků kečupů. Byla stanovena nekonečná optická vrstva vzorku pro zdroj C a D65, která je minimálně 20 mm. Při senzorickém i přístrojovém hodnocení se projevil jako výrobek s velmi nízkou intenzitou červené barvy (parametr $+a$) Baby kečup. Absolutní hodnoty parametru $+a$ vykazují u jednotlivých vzorků značné rozdíly. Dále byla hodnocena závislost barevné přijatelnosti (stupnice 1–12) hodnocené senzoricky na poměru $+a/+b$. Zde se vydělily tři vzorky (Baby kečup, Curry kečup a Ketchup Hamburger), které měly poměr $+a/+b$ menší než 1,8 a pořadí přijatelnosti vyšší než 9. Senzorickou analýzou byl stanoven barevně nejpřijatelnější vzorek (Ketchup Mexicano), který byl použit jako standard červené barvy.

barva; kečup; standard; senzorika; kolorimetr; barvivo

Rajčatové výrobky patří k nepočetné skupině potravinářských výrobků, u nichž se systematicky sleduje barva jako kvalitativní parametr. Červená barva je u čerstvých plodů známkou zralosti a má přímý vztah k rozvoji chutnosti.

Barva čerstvých rajčat je dána kombinací karotenoidních barviv (nejvíce lykopen). Dále se na výsledné barvě podílí (α -, β -, γ - a δ -) karoteny a xanthofyly. Zelená barva nezralých rajčat je dána obsahem chlorofylu, který se během zrání odbourává za současného nárůstu koncentrace karotenoidních barviv. Pokud jde o různé výrobky z rajčat (např. šťávy, koncentráty aj.), hrají zde významnou úlohu podmínky zpracování (J o w i t t et al., 1987). Barvu ovlivňuje obsah sušiny, stupeň rozmělnění suroviny, působení kyslíku, teplota dosažená při zpracování atd. Přímý vztah je samozřejmě mezi obsahem chlorofylu a barvou výrob-

ku. Hodnocení podle koncentrace chlorofylu je možné pouze u čerstvé suroviny, protože tepelným zpracováním během výroby kečupů dochází k značným ztrátám barviva (N a r k v i o j, R a n g a n n a, 1977).

Obecně se ukazuje, že zvýšení teploty se negativně odráží na barvě, tj. klesají hodnoty jasu (L) a barevného parametru pro červenou ($+a$), resp. zelenou barvu ($-a$) a to tím rychleji, čím vyšší je obsah sušiny (J o w i t t et al., 1987). Také účinnost rozmělnění plodů, tedy velikost dispergovaných částic, má vliv na rovnoměrnost rozdělení lykopenu v koncentrátu. Za přítomnosti hrubších částic nejsou porušeny buněčné stěny a lykopen zůstává v granulích uvnitř buněk (M i k i, A k u t s u, 1971).

Pro výslednou barvu je významné dlouhodobé působení kyslíku v kombinaci se zvýšenou teplotou skladování. Tento problém se může objevit v souvislosti s vlastností

*Práce byla vykonána s podporou NAZV (grant č. EP 096 0006634).

materiálu používaného k balení výrobků. Např. při více než 90denním působení $1550 \cdot 10^5 \text{ mol O}_2 \cdot \text{m}^{-2}$ došlo k poklesu parametru $+a$ u kečupu na senzoričticky nepřijatelnou hodnotu 15,7. Přitom je však důležité, že k uvedenému zhnědnutí došlo pouze v tenké vrstvě exponovaného povrchu (Burgess et al., 1990).

V případě výrobků (např. kečupů, omáček apod.) jsou k rajčatovému koncentrátu přidávány přísady, které mohou ovlivnit barvu finálního výrobku (např. sůl, ocet, škrob aj.). Užití tepelného zákroku vede v některých případech (s ohledem na přijatelnost pro spotřebitele) k nutnosti dodatečné úpravy barvy přidávkem barviv. Nejčastěji samozřejmě červeného, ve zvláštních případech např. žlutého (Curry ketchup).

Rajčatové výrobky jsou v oboru měření barvy potravin často užívaným materiálem pro různá ověřovací a srovnávací měření. I z těchto důvodů se pro tento druh vzorků často využívá Hunterův systém. Z tohoto systému vychází řada dalších parametrů, užívaných k samotnému hodnocení. Jedním z nich je speciálně pro kontrolu barvy rajčat používaný tzv. *TC index* (tomato color index), který je definován (Jowitz et al., 1987):

$$TC \text{ index} = a / L \cdot \sqrt{a^2 + b^2}$$

Nejčastěji užívanou srovnávací hodnotou je však poměr $+a/+b$. Tohoto poměru se užívá i v případě dalšího barevného prostoru – CIELAB. Poměr parametrů $+a$, $+b$ (v Hunterově systému), resp. $+a^*$, $+b^*$ (v systému CIELAB) se často využívá při hodnocení barvy a barevných změn během zpracování potravin.

Na samotné měření má podstatný vliv geometrické uspořádání měřících prvků. Při hodnocení koncentrátu s 12%

obsahem sušiny (zdroj C, 2° úhel pozorovatele) a 20 mm vysokou vrstvou koncentrátu kolísala poměr $+a/+b$ při použití dvou typů geometrie 0°/45° a 45°/0° v rozpětí hodnot $+a/+b = 1,7\text{--}2,4$ (Hils, 1987).

Obecně lze konstatovat, že na měření barvy má vliv struktura povrchu vzorku a jeho konzistence. Při sledování vlivu vložení skleněné desky na povrch vzorku při měření bylo zjištěno, že přítomnost desky významně ovlivňuje měření absolutních hodnot $+a$, $+b$ nebo L . Pro relativní vyjádření poměrem $+a/+b$ není významný. Hloubka vrstvy vzorku kolem 30 mm neovlivňuje naměřené hodnoty (Jowitz et al., 1987).

MATERIÁL A METODY

K ověření metodiky měření barvy na nově zakoupeném kolorimetru Minolta CR-300, který poskytuje alternativní možnost měření za podmínek zdroje C nebo D65 v pěti barevných systémech (Yxy , $L^*a^*b^*$, $L^*C^*H^*$, XYZ , Hunter Lab), jsme proměřovali vzorky kečupů pocházejících z obchodní sítě (tab. I).

Pro zajištění standardních světelných podmínek při senzoričtém hodnocení kečupů bylo použito zářivky LUMILUX COMBI-N L30/72 s teplotou chromatičnosti 6500 K, což odpovídá standardnímu světelnému zdroji D65.

Podmínky měření

Při stanovení barvy vzorků kečupů bylo použito světelných zdrojů C a D65 (testovalo se měření na kolorimetru Minolta). Při porovnávání výsledků se senzoričtým hodnocením se použily hodnoty naměřené při nastaveném zdroji D65 vzhledem k světelným vlastnostem zářivky použité při senzoričtém hodnocení.

I. Vzorky kečupů – Ketchup samples

Číslo vzorku ¹	Název výrobku ²	Výrobce ³	Přibarvení ⁴
27	Kečup jemný ⁴	HAMÉ Babice	neuveдено ¹¹
29	Baby kečup ⁵	HAMÉ Babice	neuveдено
30	Ketchup OTMA s česnekem ⁶	OTMA Mařatice	neuveдено
35	Ketchup MEXICANO ⁷	KAND Dobruška	přírodní barvivo ¹²
36	Ketchup sladký ⁸	KAND Dobruška	neuveдено
40	Ketchup OTMA Hamburger	OTMA Mařatice	neuveдено
42	Delikates ostrý ⁹	KAND Dobruška	canthaxanthin
57	CURRY Ketchup	HEINZ (USA)	kari
58	Kečup Gurmán ostrý ¹⁰	OTMA Mařatice	přírodní barviva
65	Mechican Ketchup	HEINZ (USA)	nepřibarvováno ¹³
66	Hot Ketchup	FELIX Austria	neuveдено
67	GOURMET Ketchup hot	SPAK Austria	neuveдено

¹sample no.; ²product name; ³manufactured by; ⁴Ketchup colorants; ⁵Fine Ketchup; ⁶Baby Ketchup; ⁷OTMA Ketchup with Garlic; ⁸Sweet Ketchup; ⁹Delikates Hot; ¹⁰Gurmán Hot Ketchup; ¹¹not indicated; ¹²natural colorant; ¹³no colorants added

* Čísla jsou vzorkům přiřazena náhodně – Random assignment of numbers to samples

Charakteristiky kolorimetru Minolta CR-300: geometrie D/0° (difuzní rozptyl světla zdroje/0° úhel dopadu odraženého světla od vzorku na měřicí čidlo), 2° standardní pozorovatel, 8 mm měřicí průměr nástavce sondy, který je opatřen průhledným plastovým krytem. Bílá kalibrační keramická deska je příslušenstvím kolorimetru.

Měření byla realizována za laboratorní teploty. K hodnocení bylo použito Hunterova systému, aby bylo možné srovnání s hodnotami uváděnými v použité literatuře (v USA se při měření barvy kečupů Hunterova systému užívá často).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Měření barvy jednotlivých kečupů

Výška optické vrstvy, tj. vrstva vzorku, která vylučuje rušení měření odrazem světla od pozadí, byla stanovena na 15–20 mm.

Všechny vzorky kečupů (tab. I) byly měřeny za podmínek obou světelných zdrojů. Z obr. 1 vyplývá, že hodnoty jasu (L) se při porovnání obou zdrojů výrazně nelišily, pohybovaly se v rozmezí $L_C = 19,3–26,9$ a $L_{D65} = 20,2–25,3$. Přitom hodnoty pro zdroj C byly ve většině případů vyšší (výjimkou je vzorek č. 29). Tyto naměřené odlišnosti jsou dané jen relativním energetickým složením spektra primárního zdroje.

Také absolutní hodnoty parametru $+a$ se při měření za podmínek obou zdrojů mezi sebou téměř neliší. Naproti tomu rozdíly mezi jednotlivými vzorky jsou dosti výrazné. Nejvyšších hodnot nabývá parametr $+a$ (nejintenzivnější červená barva) u vzorků č. 36 a 58. Naopak nejnižší hodnoty se projeví u kečupů č. 29, 40 a 42. Barva vzorků č. 29 a 40 měla spíše hnědé odstíny, což bylo zřejmě ovlivněno tepelným opracováním a zřejmě i (v porovnání s ostatními vzorky) odlišným složením přísad.

Poměr $+a/+b$ (obr. 2), ve kterém byl do značné míry potlačen vliv řady ovlivňujících faktorů, ukazuje vždy nižší hodnoty pro zdroj C, přestože rozdíly jsou malé. Naopak rozdíly mezi vzorky kečupů byly dosti výrazné. Nízkým poměrem $+a/+b$ se projevuje přidavek žlutého barviva do vzorku č. 57. Zde se zvýšila hodnota parametru $+b$ (intenzita žluté barvy). Na velmi nízké úrovni byly i hodnoty

poměru u vzorku č. 40. Naopak mezi nejvyššími hodnotami poměru $+a/+b$ jsou všechny vzorky s deklarovaným přidavkem červeného barviva.

Porovnání našich výsledků s výsledky publikovanými v literatuře

Jedné ze závislostí $+a/+b$, a to závislosti na viskozitě (P o r r e t t a, 1993) resp. sušíně, bylo použito i k výpočtu výsledné barvy (poměru $+a/+b$) při ředění koncentrátů. K tomuto výpočtu postačuje $+a/+b$ výchozího výrobku a počáteční i konečný obsah sušiny (P o r r e t t a et al., 1988).

Pro rajčatové koncentráty bylo stanoveno rozmezí hodnot podílu $+a/+b$ (Hunterův systém), popř. poměr reflektancí při 670 a 550 nm (A l c e d o et al., 1973):

		$+a/+b$	R_{670}/R_{550}
1. skupina	špatné–dobré	1,82–1,92	9,0–10,0
2. skupina	dobré–vynikající	2,14–2,22	12,3–13,4

Podle tohoto hodnocení by se námi naměřené vzorky kečupů zařadily takto:

menší hodnoty než v 1. skupině – vzorky č. 29, 40, 57

1. skupina – vzorky č. 27, 42, 66, 67

2. skupina – vzorky č. 35, 58, 65

větší hodnoty než v 2. skupině – vzorky č. 30, 36

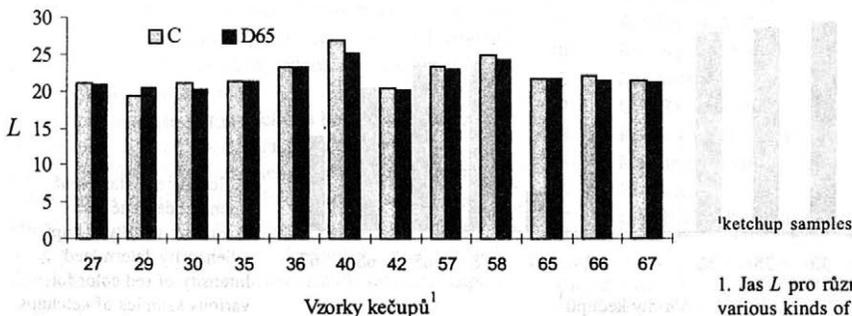
H i l s (1987) uvádí ve své práci zabývající se rajčatovými koncentráty (např. šťávy, omáčky...) tyto hodnoty poměru $+a^*/+b^*$ v systémech CIE, CIELAB:

- třída > 2
- třída 1,99–1,80
- třída 1,79–1,60

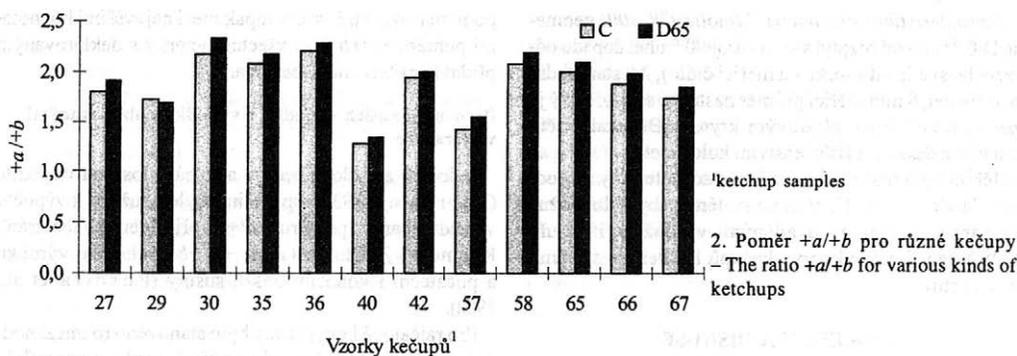
Z velkého počtu měření byla stanovena tzv. ideální barva rajčatového pyré (koncentrátu) v systému CIE XYZ: $X = 7,78$; $Y = 5,0$ a $Z = 1,18$ (D r á k et al., 1989).

Barvou rajčatových výrobků se v USA podrobně zabývají i normy, které jsou postupně upravovány a zlepšovány. Z jejich srovnání vyplývá rozpětí hodnot jednotlivých barevných parametrů v Hunterově systému (Y e a t m a n, 1976):

	L	a	b
stupeň A	>27,7	>29,9	>15,7
stupeň C	<29,0	<28,6	<16,6



1. Jas L pro různé kečupy – Light L for various kinds of ketchups



Podle tohoto hodnocení by se námi naměřené vzorky kečupů zařadily takto:

stupeň C – vzorky č. 27, 30, 35, 36, 42, 58, 65, 66, 67

stupeň A – vzorky č. 29, 40, 57

Porovnání instrumentálního a senzorického hodnocení

Orientačního senzorického hodnocení se zúčastnilo 10 zkušených hodnotitelů, kteří měli za úkol určit:

- intenzitu červené barvy každého vzorku;
- pořadí vzorků kečupů podle přijatelnosti, resp. oblíbenosti vzhledem k barvě;
- u každého ze vzorků, zda intenzita červené barvy je optimální, popř. zda by se měla zvýšit či snížit.

Samotné posuzování probíhalo za standardních světelných podmínek ve světle zářivky s teplotou chromatičnosti odpovídající zdroji D65. Tytéž vzorky byly paralelně měřeny kolorimetrem při použití téhož zdroje a při průměrné výšce měřené vrstvy 63,3 mm. Pro porovnávání senzorického a kolorimetrického stanovení byly vypočteny průměrné hodnoty obou stanovení.

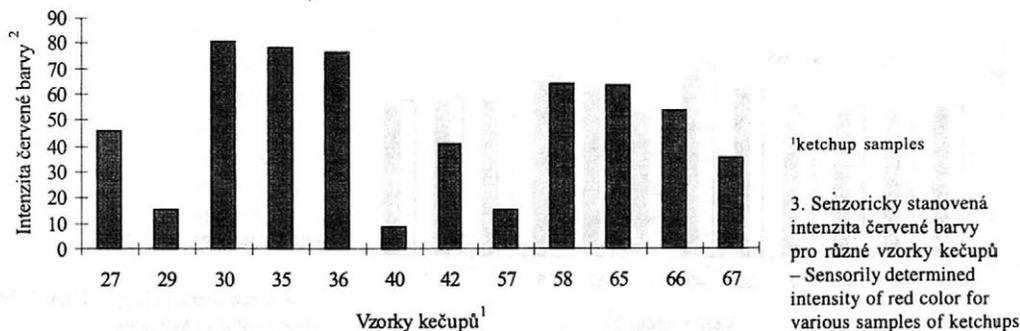
Při senzorickém hodnocení (obr. 3) se jako výrobek s malou intenzitou projevil vzorek č. 29, což je ve shodě s aparativním měřením. S přibližně stejným výsledkem pak byl hodnocen vzorek č. 57. Jako velmi nízká byla hodnotiteli označena intenzita červené barvy u vzorku č. 40. Naproti tomu velmi vysoké hodnoty intenzity červené barvy byly u vzorků č. 30, 35 a 36.

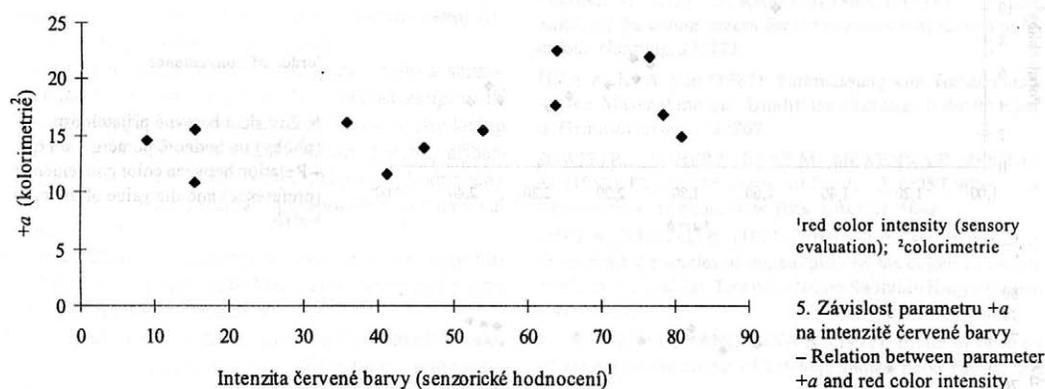
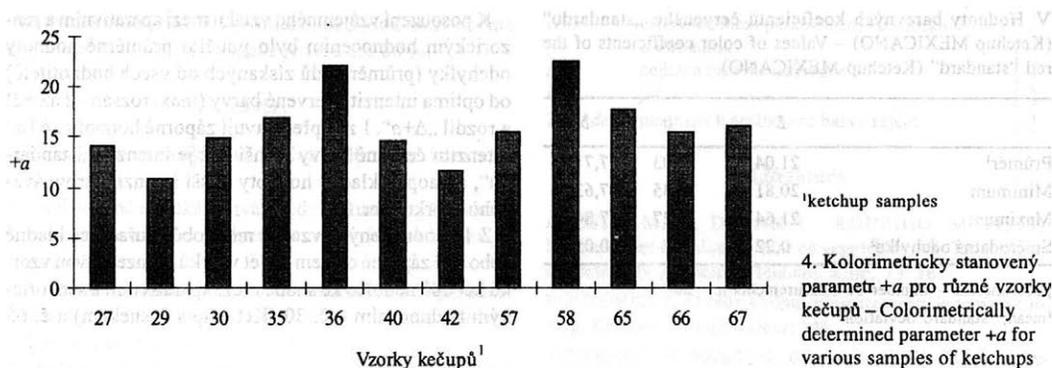
Při kolorimetrickém stanovení (obr. 4) byla nejvyšší intenzita červené barvy zjištěna u vzorků č. 36 a 58, přičemž u vzorku č. 58 byl deklarován přídavek přírodních barviv. Nejnižších hodnot nabýval parametr $+a$ u vzorku č. 29 a dále u vzorku č. 42.

V případě posouzení závislosti senzoricky hodnocené intenzity červené barvy a kolorimetricky stanoveného parametru $+a$ pro červenou barvu (obr. 5) byl vypočten korelační koeficient $r = 0,5696$ (lineární závislost je popsána vztahem $y = 0,08x + 12,27$).

Dále byla hodnocena závislost oblíbenosti, resp. průměrného pořadí barevné přijatelnosti hodnocené senzoricky na poměru $+a/+b$, který byl stanoven z kolorimetrických hodnot (obr. 6). Zde se odlišovaly tři vzorky (č. 29, 57 a 40), které měly poměr $+a/+b$ menší než 1,8 a pořadí přijatelnosti vyšší než 9. Vzorky s poměrem $+a/+b$ větším než 1,9 tvoří skupinu přijatelnějších, a to tím více, čím více roste hodnota poměru $+a/+b$.

Intenzita červené barvy pro tento typ výrobku má významný vliv na celkovou barevnou diferenci (ΔE). Při hodnocení závislosti (obr. 7) ΔE na intenzitě červené barvy (hodnocené senzoricky) byl zjištěn korelační koeficient $r = 0,5924$ ($y = 0,03x + 76,04$). Stejně jako v předchozí závislosti jsou výrazně odlišné vzorky č. 29, 40 a 57. Pokud byly tyto tři vzorky vyloučeny, zvýšil se korelační koeficient na $r = 0,636$ ($y = 0,02x + 76,36$).





Při hodnocení pořadí barevné přijatelnosti (od 1 do 12), tedy oblíbenosti, byl stanoven nejnižší průměr pořadí barevné přijatelnosti (tab. II) u vzorku č. 35 s deklarovaným přídatkem přírodního barviva. Tento vzorek měl průměrné pořadí 3,7. Další v pořadí byly vyhodnoceny vzorky č. 36 (průměr 4,0), č. 58 (přídavek přírodního barviva, průměr 4,1) a č. 65 (nepřibarvováno, průměr 4,4). Naopak nejhůře byl hodnocen vzorek č. 40 (průměr 11,6).

Na základě vyhodnocení pořadí barevné přijatelnosti (oblíbenosti) byl nejlépe hodnocený vzorek opakovaně proměřen a byly stanoveny průměrné hodnoty barevných parametrů tohoto vzorku (tab. III). Ty pak byly použity jako „standard červené barvy“ pro měření všech 11 zbývajících kečupů. Odchytky „ $\Delta+a$ “ od tohoto „standardu“ byly použity k dalšímu srovnání.

V poslední otázce sensorického hodnocení posuzovali hodnotitelé optimálnost intenzity červené barvy, popř. potřebu její úpravy (snížení nebo zvýšení). Optimum bylo interpretováno jako nulový bod, doporučené snížení intenzity červené barvy bylo považováno za přebytek intenzity červené barvy (kladné hodnoty), a naopak požadavek na zvýšení intenzity za nedostatek intenzity (záporné hodnoty).

II. Průměrné pořadí barevné přijatelnosti (oblíbenosti) vzorků kečupů zjištěné sensorickým hodnocením – Mean order of color convenience (preference) in ketchup samples determined by sensory evaluation

Vzorek ¹	Průměr pořadí přijatelnosti (oblíbenosti) ²	
27	Kečup jemný ³	5,6
29	Baby kečup ⁴	11,2
30	Ketchup s česnekem ⁵	5,0
35	Ketchup MEXICANO	3,7
36	Ketchup sladký ⁶	4,0
40	Ketchup Hamburger	11,6
42	Delikates ostrý ⁷	6,8
57	CURRY Ketchup	10,0
58	Kečup Gurmán ostrý ⁸	4,1
65	Mechican Ketchup	4,4
66	Hot Ketchup	5,11
67	GOURMET Ketchup hot	6,3

¹sample; ²mean order of convenience (preference); ³Fine Ketchup; ⁴Baby Ketchup; ⁵Ketchup with Garlic; ⁶Sweet Ketchup; ⁷Delikates Hot; ⁸Gurmán Hot Ketchup

V. Hodnoty barevných koeficientů červeného „standardu“ (Ketchup MEXICANO) – Values of color coefficients of the red “standard” (Ketchup MEXICANO)

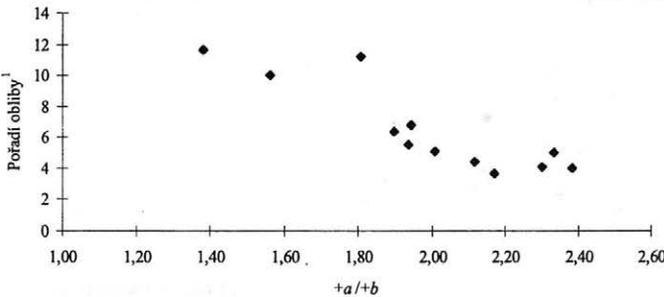
	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
Průměr ¹	21,04	17,03	7,71
Minimum	20,81	16,35	7,63
Maximum	21,64	17,27	7,84
Směrodatná odchylka ²	0,22	0,27	0,05

počet měření – number of measurements $n = 20$

¹mean; ²standard deviation

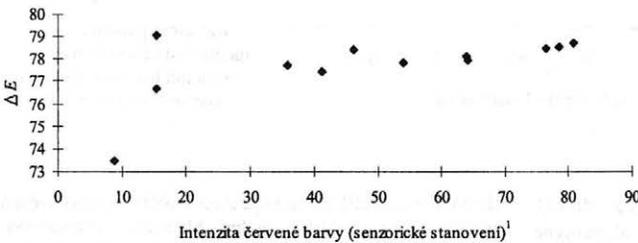
K posouzení vzájemného vztahu mezi aparativním a senzoricým hodnocením bylo použito průměrné hodnoty odchylky (průměr bodů získaných od všech hodnotitelů) od optima intenzity červené barvy (max. rozsah -2 až $+2$) a rozdíl „ $\Delta+a$ “. I zde představují záporné hodnoty „ $\Delta+a$ “ intenzitu červené barvy menší než je intenzita „standardu“, a naopak kladné hodnoty vyšší intenzitu srovnávaného vzorku (obr. 8).

Z 11 hodnocených vzorků mělo obě souřadnice kladné nebo obě záporné celkem devět vzorků. Pouze u dvou vzorků kečupů nedošlo ke shodě mezi aparativním a senzoricým hodnocením – č. 30 (Ketchup s česnekem) a č. 65

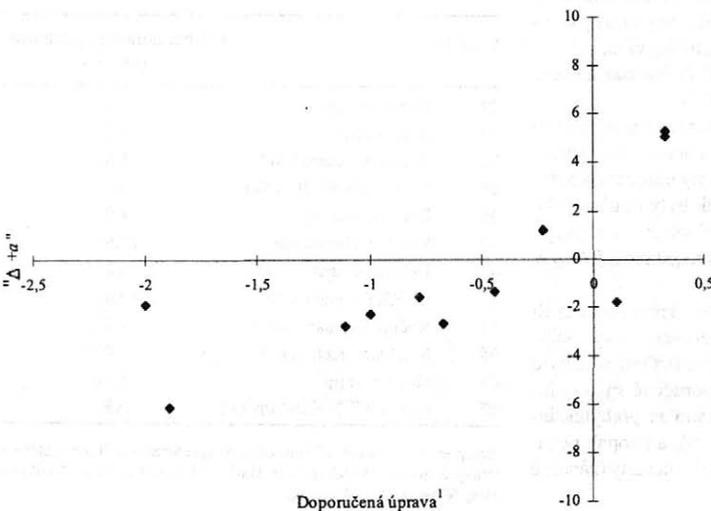


¹order of convenience

6. Závislost barevné přijatelnosti (oblíbenosti) na hodnotě poměru $+a/+b$ – Relation between color convenience (preference) and the value of the ratio $+a/+b$



7. Závislost celkové barevné difference na intenzitě červené barvy (senzoricke hodnoceni) – Relation between total color difference and red color intensity (sensory evaluation)



¹recommended treatment

8. Závislost odchylek od „barevného standardu“ a doporučené úpravy – Relation between deviations from “color standard” and recommended treatment

(Mechican Ketchup). To znamená, že shoda mezi oběma metodami v uvedeném případě je více než 80 %.

Závěry

Na základě výsledků uvedených měření lze konstatovat:

1. „Nekonečná optická vrstva“, tedy nejmenší výška vhodná pro kolorimetrické měření za uvedených podmínek, je alespoň 20 mm.
2. V případě měření absolutních hodnot barevných parametrů se porovnávají zdroje C a D65 pro různé vzorky kečupů výrazně neliší.
3. Hodnota poměru $+a/+b$ pro různé kečupy ve většině případů byla vyšší u zdroje D65 než u zdroje C.
4. Porovnáním barevné intenzity červené barvy při senzoričtém a kolorimetrickém měření byly zjištěny velmi nízké hodnoty pro vzorek Baby kečup.
5. Ve srovnání dalších parametrů aparativního a senzoričtého hodnocení se projevila odlišnost skupiny tří vzorků. Dva z nich se jeví jako hnědé (Baby kečup a Ketchup Hamburger), třetím byl Curry ketchup přibarvený žlutým barvivem. Tyto vzorky byly hodnoceny jako nejméně barevně přijatelné a poměr $+a/+b$ nabýval hodnot $< 1,8$.
6. Senzorickou analýzou byl stanoven barevně nejpřijatelnější vzorek (Ketchup Mexicano), který byl použit jako „standard červené barvy“;
7. Na základě kolorimetrického měření ostatních vzorků proti „barevnému standardu“ a doporučení hodnotitelů u optimalizaci intenzity červené barvy byla zjištěna shoda mezi oběma metodami více než 80 %.

Seznam symbolů

$+a$	intenzita červené barvy	[–]
$-a$	intenzita zelené barvy	[–]
$+b$	intenzita žluté barvy	[–]
$-b$	intenzita modré barvy	[–]
a/b	poměr parametrů barvy	[–]
$\Delta+a$	diference mezi parametrem $+a$ vzorku a standardu	[–]

$\Delta+b$	diference mezi parametrem $+b$ vzorku a standardu	[–]
ΔE	celková barevná diference	[–]
L	jas	[–]
$TC\ index$	parametr k hodnocení barvy rajčat	[–]

Literatura

- ALCEDO M. J., DURAN L., RODRIGO M. (1973): Measurement of colour in canned vegetables. VI. Tomato concentrate. *Rev. Agroquim. Technol. Alim.*, 13: 583.
- BONTOVITS L. (1980): Colour measurements in tomato canning. *Konzerv- es paprikaipar*: 146.
- BURGESS C., BURGESS G., OFOLI R. (1990): Oxygen diffusion rate through the Gamma bottle and associated kinetic effects on tomato ketchup. *Packag. Technol. Sci.*, 3: 233.
- DRDÁK M., KUSÝ P., KAROVIČOVÁ J. (1989): The suitability of the colour spaces for the evaluation of tomato purée colour. *Nahrung*, 33: 773.
- HILS A. K. A. von (1987): Farbmessung von Tomatenmark – eine Massnahme zur Qualitätssicherung. *Industr. Obst. u. Gemuseverwert.*, 72: 267.
- JOWITTR., ESCHER F., KENT M., MCKENNA B., ROQUES M. (1987): Physical Properties of Foods – 2. COST 90bis Final Seminar Proc. London, New York, Elsevier: 564s.
- MIKI N., AKATSU K. (1971): Effect of the size distribution of suspended particles of tomato pulp on the colour of tomato products. *J. Food Sci. Technol. (Nihon Sholuhin Kogyo Gakkai shi)*, 18: 303.
- NARKVIROJ P., RANGANNA S. (1977): Effect of ripeness of tomato on the colour of ketchup. *Indian-Food-Packer*, 31, 1977: 40.
- PORRETTA S. (1991): Analytical profiling of ketchup. *J. Sci. Food Agric.*, 57: 293.
- PORRETTA S. (1993): Analysis of sensory and physicochemical data on commercial tomato purée with pattern recognition techniques. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.*, 197: 531.
- PORRETTA S., SANDEI L., LEONI C. (1988): Possibility of mathematically evaluating the colour index of a tomato paste at any soluble solid content. *Ind. Conserve*, 63: 34.
- YEATMAN J. N. (1976): Tomato Color standards Need Revision. *Food Technol.*, 30: 50.

Došlo 16. 10. 1997

Kontaktní adresa:

Ing. Pavla Novotná, Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10, Česká republika, tel.: + 420 2 702 331, fax. + 420 2 701 983, e-mail: p.novotna@vupp.cz

Extrakcia čakanky

Stanislav BAXA

Food Research Institute – Biocentrum Modra, Bratislava, Slovak Republic

Abstract

BAXA S. (1998): **Extraction of chicory.** Czech J. Food Sci., 16: 72–76.

The chicory (*Cichorium intybus*) is one of the important sources of inulin, which is a perspective food additive. The sale of chicory roots has increased almost 20 times in Slovakia in the last four years. We present results of measurements of basic extraction characteristics, including the type of solvent, ratio solid / liquid, time and temperature of extraction, where we evaluated the quality of obtained extracts, focused on contents of inulin, bitter compounds and colour. The measurements were performed with the goal to find an extraction system that enables to obtain relative pure extracts of inulin or bitter compounds from dried chicory roots

chicory; extraction; inulin; bitter compounds

Súhrn

BAXA S. (1998): **Extrakcia čakanky.** Czech J. Food Sci., 16: 72–76.

Jedným z významných zdrojov inulínu ako perspektívneho potravinárskeho aditíva je čakanka. Na Slovensku v posledných štyroch rokoch vzrástol jej predaj takmer 20násobne. V práci prezentujeme výsledky meraní základných charakteristík extrakcie zahŕňajúcich typ rozpúšťadla, pomer tuhá látka / kvapalina, dobu a teplotu extrakcie, pri ktorých bola vyhodnocovaná kvalita získaných extraktov zameraná na obsah inulínu, obsah horčín a farebnosť extraktu. Merania boli vykonávané s cieľom nájsť extrakčný systém umožňujúci získať zo sušeného čakankového koreňa relatívne čisté extrakty inulínu, resp. horkých látok.

čakanka; extrakcia; inulín; horké látky

Čakanka (*Cichorium intybus*, ľudovo cigória, korenie sv. Petra) je mnohým známa ako vysoká drevnatá burina rastúca na okrajoch ciest, s výraznými modrými kvetmi. Iní ju poznajú ako náhradu zrnkovej kávy pod názvom cigória, ďalší ako vynikajúcu zeleninovú prílohu k jedlám ako čakanku štrbákovú, resp. endíviu.

História využívania čakanky siaha až do čias Rímskej ríše, pričom čakanku ako potravinu využívali všetky staroveké civilizácie v oblasti Stredozemného mora. V 18. storočí sa používanie čakanky rozšírilo do celej Európy, najmä ako náhrady málo dostupnej zrnkovej kávy a suroviny na výrobu piva. Okrem využívania pre výživu ľudí bola a je čakanka v mnohých častiach Európy, zahŕňajúc Britské ostrovy, Francúzsko, Taliansko a Švajčiarsko, pestovaná ako zásobné krmivo, hlavne pre hovädzí dobytok (Mitichl, 1993).

Aktuálny stav na Slovensku

Podľa Listiny povolených odrôd (1996) je v súčasnosti povolené na Slovensku pestovať iba dve odrody koreňo-

vej čakanky (odrody Slezská a Špičák), tri odrody čakanky obyčajnej (šalátové odrody Decema, Febra a Marta) a jednu odrodu čakanky štrbákovvej (Eskariol zelený).

Podľa tab. I, v ktorých sú zhrnuté základné údaje o produkcii a predaji čakanky za posledné štyri roky, je možné zaznamenať výrazný nárast celkového množstva vypěstovanej (takmer šesťnásobok v roku 1996 oproti roku 1993)

I. Základné údaje o produkcii čakanky v podmienkach Slovenskej republiky – Basic data chicory production in the conditions of Slovak Republic

Čakanka – koreň ¹	1993	1994	1995	1996
Zberová plocha ² [ha]	161	600	964	889
Úroda ³ [t]	2701	3 000	15 317	16 076
Predaj za celý rok ⁴ [t]	701	7 217	8 0726	14 136
Priemerná cena ⁵ [Sk/kg]	1,70	1,51	1,80	2,13

¹chicory – root; ²harvested area; ³crop; ⁴sales for the whole year; ⁵average price

i predanej (20násobok v roku 1996 oproti roku 1993) koreňovej čakanky (Štatistické správy, 1994–1997). Celá produkcia surového čakankového koreňa na Slovensku je zabezpečená pestovaním iba v troch južných okresoch západného Slovenska, čo určite súvisí s lokalizáciou jediného spracovateľského závodu v Seredi, kde je čakanka spracovávaná na rôzne formy kávovinových zmesí, alebo po usušení exportovaná ako polotovár do zahraničia.

Nárast produkcie čakanky je možné dať do súvislosti s celosvetovým trendom výroby progresívnych potravinárskych aditív z prírodných zdrojov, nakoľko čakanka je najvýznamnejším zdrojom inulínu ako rozpustnej nestráviteľnej vlákniny (tab. II) (G r ü h n e, 1994). Inulínový sirup je zaradený od júla 1994 do režimu cukru v rámci spoločnej poľnohospodárskej politiky Európskej únie.

II. Obsah inulínu v rôznych rastlinných materiáloch – Inulin contents in various plant materials

Potravina ¹	Obsah inulínu ⁹	
	g/ 100 g čerstvej suroviny ¹⁰	g/ 100 g sušiny ¹¹
Čakanka ²	16	80
Čierny koreň ³	13	75
Topinambur ⁴	15	75
Artičoky ⁵	15	70
Cibuľa ⁶	4	40
Cesnak ⁷	12	40
Banány ⁸	0,5	2

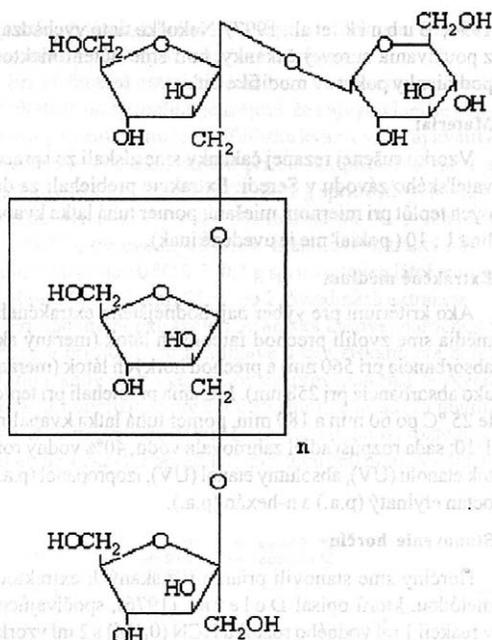
¹food; ²chicory; ³viper's grass; ⁴Jerusalem artichoke; ⁵true artichoke; ⁶onion; ⁷garlic; ⁸bananas; ⁹inulin content; ¹⁰fresh mass; ¹¹dry matter

Významné látky obsiahnuté v čakanke

Inulín (obr. 1) ako hlavný zásobný polysacharid čakanky si zasluhuje pozornosť z viacerých hľadísk:

- nepodlieha hydrolyze v intestinálnom trakte a je fermentovateľný bifidobaktériami – dá sa využiť ako nestráviteľná vláknina s pozitívnym vplyvom na mikroflóru črevného traktu (C o u s s e m e n t, 1996; L e e n h e e r, 1994);
- pozostáva z reťazcov D-fruktózy zakončených molekulou sacharózy – po vhodnom naštípení sa dá využiť ako sladidlo pre diabetikov;
- je málo rozpustný v studenej vode, vytvára gély, má neutrálnu chuť a bielu farbu – je možné ho použiť ako náhradu tukov do nízkoenergetických výrobkov alebo plnidlo do pekárenských a zahusťovadlových, resp. texturant do mliekárenských výrobkov.

Ďalšou využiteľnou skupinou látok nachádzajúcich sa v koreňoch čakanky je komplex horčín (obr. 2). V zmysle komplexného využitia čakanky je možné uvažovať o jeho izolovaní a využití ako náhrady syntetických ochucovadiel (napríklad hydrochloridu chinínu) vo vybraných ná-

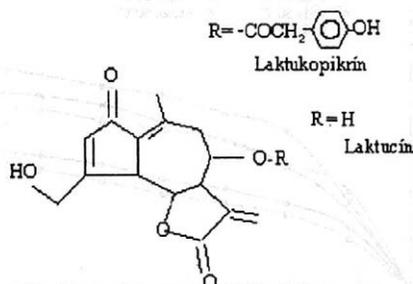


1. Inulín ($n = 2-5$) – Inulin ($n = 2-5$)

pojoch. V tejto oblasti bolo vypracovaných niekoľko originálnych postupov izolácie a aplikácie prevažne českými autormi. Významnými charakteristikami získaného koncentráta horkých látok je ich zdravotná nezávadnosť, nakoľko pochádzajú výlučne z rastlinného materiálu používaného v potravinárskej a farmakologickej praxi dlhú dobu, dostatočná chuťová stálosť, výborná rozpustnosť vo vode, neprítomnosť akejkoľvek rušivej prichute ako aj použiteľnosť pre všetky skupiny obyvateľstva, priaznivý vplyv na trávenie a na povzbudenie chuti (AO 235448, AO 243147).

MATERIÁL A METÓDY

Pri stanovení podmienok jednotlivých pokusov sme vychádzali z doteraz publikovaných prác (L e e n h e e r,



2. Charakteristické horké látky čakanky – Typical bitter substances of chicory

1994; Bubník et al., 1997). Nakoľko tieto vychádzajú z používania surovej čakanky, boli sme nútení niektoré podmienky pokusov modifikovať.

Materiál

Vzorku sušenej rezanej čakanky sme získali zo spracovateľského závodu v Seredi. Extrakcie prebiehali za daných teplôt pri miernom miešaní; pomer tuhá látka kvapalina 1 : 10 (pokiaľ nie je uvedené inak).

Extraktčné médium

Ako kritérium pre výber najvhodnejšieho extraktčného média sme zvolili prechod farebných látok (meraný ako absorbancia pri 560 nm) a prechod horkých látok (meraný ako absorbancia pri 258 nm). Merania prebiehali pri teplote 25 °C po 60 min a 180 min, pomer tuhá látka kvapalina 1:10; sada rozpúšťadiel zahŕňovala vodu, 40% vodný roztok etanolu (UV), absolútny etanol (UV), izopropanol (p.a.), octan etylatý (p.a.) a n-hexán (p.a.).

Stanovenie horčín

Horčiny sme stanovili priamo v získaných extraktoch metódou, ktorú opísal Dolžal (1976), spočívajúcou v reakcii 1 ml vodného roztoku KCN (0,1M) s 2 ml vzorky v prostredí 10 ml metanolickeho roztoku NaOH (0,1M). Meria sa absorbancia vzniknutého žltého roztoku (po odfiltrovaní prípadnej zrazeniny) po 18 hodinách státia v tme pri 390 nm oproti slepému pokusu. Pre jednoduchosť uvádzame ako mieru horkosti absorbanciu roztoku.

Stanovenie farebnosti

Ako mieru farebnosti sme zvolili absorbanciu prefiltrovaného extraktu pri 560 nm (Friml, Tichá, 1986).

Stanovenie obsahu inulínu

Najrozšírenejšia metóda stanovenia inulínu spočíva v meraní absorbancie roztoku v UV oblasti po enzymatickej hydrolyze (UV method ..., 1995). Pre naše účely bol obsah inulínu, vyjadrený ako celkový obsah hexóz, stanovený spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 630 nm po reakcii s antrónom v prostredí koncentrovanej kyseliny sírovej (Jermyn, 1975).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri výbere rozpúšťadiel sme vychádzali z predpokladu, že niektoré z rozpúšťadiel bude selektívnejšie extrahovať horké látky, resp. farbivá voči inulínu, čo by v praxi umožnilo použiť takéto rozpúšťadlo v extraktčnom stupni pred samotnou extrakciou inulínu vodou a následne získané vodné extrakty iba dočistiť od zvyšku sprievodných látok.

Pokusy ukázali (tab. III), že žiadne z použitých rozpúšťadiel nie je schopné tieto látky (horké látky, farbivá) selektívne odstrániť.

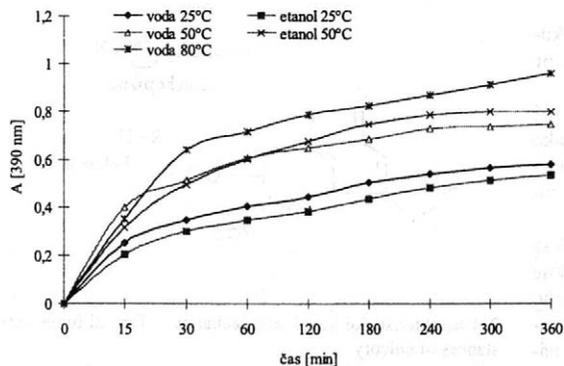
Na základe uvedeného sme pre meranie charakteristík procesu extrakcie zvolili vodu a 40% vodný roztok etanolu. Namerané výsledky sú zhrnuté v grafoch (obr. 3–6).

Výber teplôt bol podmienený týmito kritériami: výťažnosť inulínu, stabilita získaného extraktu z hľadiska pôsobenia mikroorganizmov a enzýmov a energetická náročnosť procesu.

Zatiaľ čo sa pri teplote 25 °C extrahujú horké a farebné látky v oboch systémoch rovnako rýchlo, inulín sa extrahuje do etanolu iba na úrovni cca 50% úrovne vody. Podobne je to i pri teplote 50 °C s tým rozdielom, že farebnosť vodného extraktu výrazne rastie aj po dobe 60 min, zatiaľ čo farebnosť etanolového extraktu vzrastá minimálne. Naznačuje to priebeh reakcií, pri ktorých vznikajú farebné látky. Ide pravdepodobne o enzymatické reakcie.

Je zaujímavé, že farebnosť vodného extraktu získaného pri teplote 80 °C je podstatne nižšia ako farebnosť vodného extraktu pri 50 °C. Jej nárast po 5 hodinách je možné dať do súvisu s celkovou zmenou štruktúry suroviny, t.j. jej rozvarením.

Z porovnaní priebehu extrakcie horkých a farebných látok do roztoku etanolu vyplýva, že pokiaľ sa inulín prakticky v prvých 30 minútach neextrahuje a farebné látky prechádzajú do roztoku iba v malej miere, extrakcia horkých látok je výrazná a najmä pri 50 °C porovnateľná s množstvom týchto látok vyextrahovaných do vody. Poukazuje to na možnosť využiť rýchlu predextrakciu suroviny 40% etanolom ako jednu z možností predčistenia inulínu od horkých látok, resp. získanie relatívne čistých de



čas – time; voda – water; etanol – ethylalcohol

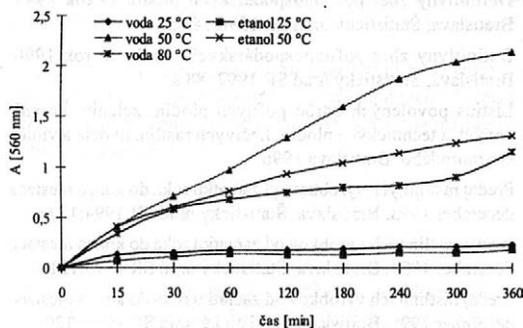
3. Extrakcia horkých látok z čakanky – Extraction of bitter substances from chicory

III. Základné extrakčné charakteristiky pre jednotlivé rozpúšťadlá – Basic extraction characteristics for the particular solvents

Rozpúšťadlo ¹	Farba ² [A 560 nm]		Horké látky ³ [A 258 nm] ^a	
	60 min	180 min	60 min	180 min
	Voda ⁴	1,5	2,7	1,3
40% etanol ⁵	0,7	0,8	1,1	1,5
Etanol abs.	0,4	0,6	0,2	–
Izopropanol ⁶	0,4	0,3	0,1	–
Octan etylnatý ⁷	0,4	0,3	–	–
n-hexán ⁸	0,4	0,3	0,1	–

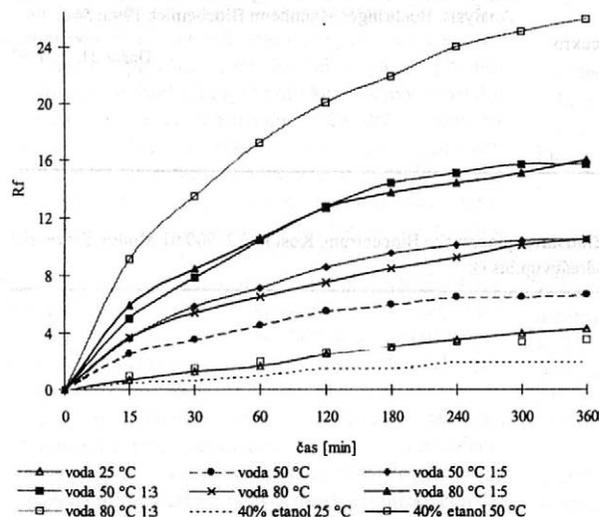
^a riedená vzorka (1 ml + 9 ml rozpúšťadla) – diluted sample (1 ml + 9 ml of solvent)

¹ solvent; ² color; ³ bitter substances; ⁴ water; ⁵ ethylalcohol; ⁶ isopropylalcohol; ⁷ ethylacetate; ⁸ n-hexane



čas – time; voda – water; etanol – ethylalcohol

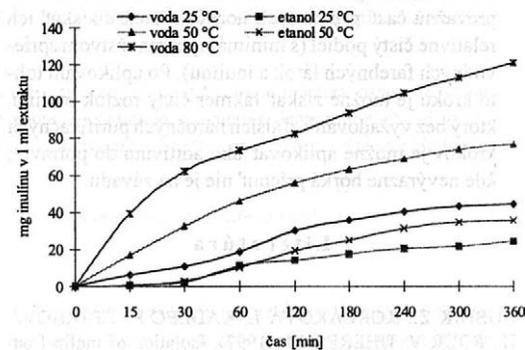
4. Farebnosť extraktu čakanky – Chicory extract color



horkých látok, ktoré je možné po prefiltrovaní a zakoncentrovaní použiť ako chuťové korigens.

Pri hodnotení extrakcie inulínu a množstva sprievodných látok na 1g inulínu je zrejme, že najvýhodnejšie podmienky extrakcie nielen z hľadiska kvantity, ale aj kvality extraktu je extrakcia vodou pri 80 °C, pričom sa na 1g inulínu extrahuje iba cca 0,07–0,01g sprievodných látok. Pre porovnanie: do vody pri teplote 50 °C prechádza 0,2–0,07g sprievodných látok. Etanolové extrakty obsahujú pri teplote 50 °C 0,7–0,3g sprievodných látok na 1g inulínu a 0,3–0,1g pri 25 °C po 2–6 hodinách extrakcie.

Pri hodnotení extrakcie z hľadiska časovej náročnosti procesu pri 80 °C sú zaujímavé údaje získané pre dobu 60 min, kedy je už vyextrahovaná prevažná časť horkých látok (0,7 oproti 0,95 pre dobu 360 min), inulínu (75 mg/ml oproti 120mg/ml pre dobu 360 min) a farebnosť roztoku je relatívne nízka (0,7 oproti 1,15 pre dobu 360 min). Na základe



čas – time; voda – water; etanol – ethylalcohol

5. Extrakcia inulínu z čakanky – Inulin extraction from chicory

čas – time; voda – water; etanol – ethylalcohol

6. Reextrakcia extraktov čakanky – Chicory extraction refraction

týchto údajov je možné pre ďalšie pokusy, zamerané na časovú náročnosť experimentov, odporučiť dobu jedného stupňa extrakcie 60 min.

Záver

Z nameraných údajov je možné dospieť k týmto uzáverom:

1. Pokusy potvrdili, že použitím sledovaných rozpúšťadiel (voda, 40% vodný roztok etanolu, absolútny etanol, izopropanol, octan etylatý a n-hexán) nie je možné sušenú čakanku selektívne predčistiť, t.j. odstrániť farebné a horké látky.
2. Ako vhodný extrakčný systém pre získanie inulínu zo sušenej čakanky je možné na základe nameraných údajov odporučiť vodu pri zvýšenej teplote (80 °C) s dobou extrakcie 60 min v jednom stupni.
3. Z kinetiky extrakcie farebných a horkých látok vyplýva, že predextrakciou sušenej čakanky s 40% vodným roztokom etanolu po dobu cca 30 minút je možné odstrániť prevažnú časť prítomných horkých látok a získať ich relatívne čistý podiel (s minimálnym množstvom sprievodných farebných látok a inulínu). Po aplikovaní tohto kroku je možné získať takmer čistý roztok inulínu, ktorý bez vyžadovania ďalších náročných purifikačných krokov je možné aplikovať ako aditívum do potravín, kde nevýrazne horká príchuť nie je na závädu.

Literatúra

- BUBNIK Z., KORČÁKOVÁ I., KADLEC P., ŠTARHOVÁ H., POUR V., UHEREK M. (1997): Isolation of inulin from chicory root. *Potrav. Vědy*, 15: 49–67.
- COUSSEMENT P. (1996): Tales of the unexpected. *Food Ingrid. Anal. Int.*, 18 (5): 25–27.
- DOLEŽAL J. (1976): Influence of different forcing methods on the yield and constituents of chicory (*Cichorium intybus* L. var. *foliosum*). *Gartenbauwissenschaft*, 41: 160–166.
- FRIML M., TICHÁ B. (1986): Laboratorní kontrola cukrovarnické výroby. Díl A. Základní rozbor. Praha.
- JERMYN M. A. (1975): Increasing the sensitivity of the Anthrone method for carbohydrate. *Anal. Biochem.*, 68: 332–335.
- GRÜHN E. (1994): Inulin-Ballaststoff aus der Zichorie und daraus gewonnene Fruktose sirupe. *Flüssig. Obst*, 61: 12–14.
- LEENHEER L. de (1994): Production and use of inulin: Industrial reality with a promising future. In: BEKKUM H. van et al: Carbohydrates as Organic Raw Materials. III. Workshop Wageningen, NL, 28–29/11/1994: 67–92.
- MITICHL W. (1993): Chicory. *Weed Technol.*, 7: 274–277.
- AO 235448 ČSSR (1984): Nealkoholický nápoj na báze hořčín z kořene čekanky.
- AO 235152 ČSSR (1984): Způsob izolace hořčín na bázi kořene čekanky.
- AO 243147 ČSSR (1985): Sirup na výrobu nealkoholických nápojů na bázi výluhů ze sušeného čekankového kořene.
- Definitivný zber poľnohospodárskych plodín za rok 1993. Bratislava, Štatistický úrad SR 1994: 88.
- Definitivný zber poľnohospodárskych plodín za rok 1994. Bratislava, Štatistický úrad SR 1995: 87 s.
- Definitivný zber poľnohospodárskych plodín za rok 1995. Bratislava, Štatistický úrad SR 1996: 88 s.
- Definitivný zber poľnohospodárskych plodín za rok 1996. Bratislava, Štatistický úrad SR 1997: 88 s.
- Listina povolených odrôd poľných plodín, zelenín, koreninových a technických plodín, liečivých rastlín, ovocia a viniča hroznorodého. Bratislava 1996.
- Predaj rastlinných výrobkov od začiatku roka do konca mesiaca december 1993. Bratislava, Štatistický úrad SR 1994: 127 s.
- Predaj rastlinných výrobkov od začiatku roka do konca mesiaca december 1994. Bratislava, Štatistický úrad SR 1995: 121 s.
- Predaj rastlinných výrobkov od začiatku roka do konca mesiaca december 1995. Bratislava, Štatistický úrad SR 1996: 120.
- Predaj rastlinných výrobkov od začiatku roka do konca mesiaca december 1996. Bratislava, Štatistický úrad SR 1997: 117 s.
- UV method for the determination of D-glucose and D-fructose in foodstuffs and other material – Determination of inulin in foodstuffs. In: *Methods of Enzymatic BioAnalysis and Food Analysis*. Boehringer Mannheim Biochemica 1995: 54 s.

Došlo 21. 7. 1997

Kontaktná adresa:

Ing. Stanislav Baxa, Výskumný ústav potravinársky Bratislava, pracovisko Biocentrum, Kostolná 7, 900 01 Modra, Slovenská republika, tel. + fax: + 421 704 472 974, e-mail: vupmodra@vup.bts.sk

REVIEW

Využitie aditívneho a synergického účinku kombinácie konzervačných metód na predĺženie trvanlivosti potravinárskych produktov

Bernadetta HOZOVÁ, Mária KORBAŠOVÁ

Slovak Technical University – Faculty of Chemical Technology, Bratislava, Slovak Republic

Abstract

HOZOVÁ B., KORBAŠOVÁ M. (1998): **The use of additive and synergic effects of combination preservation methods for the shelf-life prolongation of food products.** Czech J. Food Sci., 16: 77–80.

The paper gives a literary survey of more recent knowledge from the viewpoint of theoretical and practical aspects of binary, ternary or multiple combinations of preservation methods (heating, cooling, irradiation, antibiotics, dehydration, chemical additives, etc. – in their mutual combinations) to prolong the shelf-life of food products. Additive and synergic effects of individual combinations are accentuated.

additive effect; synergic effect; preservation methods; binary and ternary combinations; shelf-life of food

Pozornosť výskumných pracovníkov v oblasti technológie konzervárenstva sa čoraz viac zameriava na lepšie využitie predností ktoré umožňujú netradičné prístupy, napr. kombinácia dvoch a viacerých konzervačných metód. Ku kombinovaniu metód viedla myšlienka, že niektoré konzervačné metódy nedosahujú úplnú sterilitu pri bežnom rozsahu ich aplikácie, ale len nutnú mieru sterility pri súčasnom zabránení nežiaducich zmien potravín. Iné postupy odstraňujú síce mikrobiologicky podmienené zmeny, avšak neovplyvňujú, alebo len veľmi málo ovplyvňujú súčasne prebiehajúce chemické procesy rovnako vedúce ku kvalitatívnym zmenám, takže údržnosť konzervovaného produktu je celkove neuspokojivá. Zmyslom kombinácie konzervačných metód je obmedziť intenzitu pôsobenia nepriaznivých faktorov tej-ktorej samostatne aplikovanej metódy a doplniť ju pôsobením jednej alebo aj viacerých ďalších konzervačných metód. Cieľom je dosiahnuť synergický alebo aspoň aditívny účinok rozhodujúcich činiteľov, ktorý zaručí mikrobiálnu bezchybnosť a z nej rezultujúcu skladovaciu stabilitu konzervovaných potravín vrátane maximálnej úchovy ich žiaducich výživových a organoleptických vlastností.

Medzi kombinácie najčastejšie používané v súčasnej potravinárskej praxi patria: termosterilizácia a chladenie (mrazenie), ožarovanie v kombinácii s inými konzervačnými metódami, antibiotiká, dehydratácia, chemické konzer-

vačné látky a iné netradičné metódy vo vzájomných kombináciách, vykazujúcich synergický alebo aspoň aditívny účinok.

S cieľom zmapovať súčasný stav podáva tento príspevok stručný prehľad dostupných literárnych poznatkov z oblasti teórie a aplikácie najpoužívanejších kombinácií konzervačných metód v zahraničí aj u nás.

Termosterilizácia a chladenie

Jednou z konkrétnych možností, ako získať produkt s dlhodobou uchovateľnosťou pri zachovaní nutričnej a senzorickej akosti, je znížiť intenzitu nepriaznivo pôsobiacej, sólovo aplikovanej termosterilizácie a doplniť ju inými konzervačnými technikami (chladenie, ionizujúce žiarenie, antibiotiká, konzervačné činidlá atď.). Najčastejšie používanou kombináciou v technologickej praxi je kombinácia teplo–chlad. Aplikuje sa pri výrobe rôznych mäsových, zeleninových, hydínarských a rybných výrobkov a najmä pri výrobe hotových jedál vo veľkokapacitných systémoch. Aj keď je táto kombinácia najstaršou používanou v kulinárnej i v priemyselnej praxi, v dostupnej literatúre posledných rokov úplne absentujú informácie o jej ďalšom zdokonaľovaní. Z toho dôvodu aspoň stručne spomenieme výsledky nášho niekoľkoročného výskumu (publikované a navrhnuté do priemyselnej praxe) s odkazom na príslušnú odbornú literatúru.

Termosterilizácia s nižšou intenzitou záhrevu – 30 min/121 °C stacionárnej sterilizácie a 26 min/121 °C rotačnej sterilizácie (18 ot. min⁻¹) + chladiarenské skladovanie (+5 °C)

Uvedené režimy sa ukázali ako optimálne z hľadiska mikrobiologickej (aktuálna mikroflóra), nutričnej (aminokyseliny, vitamíny) a senzorickej akosti na predĺženie trvanlivosti uvedených produktov až na 42 dní (Š o r m a n et al., 1988).

Pasterizácia + semiseptické balenie + glycín (1 a 2%) + chladiarenské skladovanie (+5 °C)

Touto kombináciou sa predĺžila skladovateľnosť výrobku „Bravčový domáci guláš“, a to z hľadiska mikrobiologických zmien, oxidácie lipidov a senzorickej prijateľnosti až na 40 dní (oproti tradičným 5–7 dňom) (R a j n i a k o v á et al., 1991; T a k á c s o v á et al., 1993).

Znížená intenzita záhrevu ($F_0 = 2$) + fytoncidy (čierne korenie a cesnak a i. v kombinácii) + chladiarenské skladovanie (+5 °C)

Pri jej použití sa dosiahlo predĺženie skladovateľnosti modelových výrobkov z bravčového mäsa až na jeden rok pri uchovaní výživovo významných látok a stabilnej senzorickej akosti (H o z o v á et al., 1989; H o z o v á, T a k á c s o v á, 1992).

Ožarovanie v kombinácii s inými konzervačnými metódami

Použitie ionizujúceho žiarenia patrí medzi moderné metódy konzervácie potravín, redukujúce počty mikroorganizmov v potravinách. Podľa spoločných záverov komisie FAO, IAEA a WHO (1981) ožarovanie potravín do celkovej dávky 10 kGy nepredstavuje žiadne toxikologické riziko a neprináša ani žiadne mikrobiologické a výživové problémy. Závety boli prepracované do medzinárodnej normy pre Codex Alimentarius v spoločnom normalizačnom potravinovom programe FAO/WHO (P a i s a n L o a h a r a n u, 1994).

Možnosť ako obmedziť poškodenie kvality výrobkov pri použití ožarovania, spočíva v tom, že sa znížia dávky a použijú sa doplnkové technologické postupy – zníženie hodnoty a_w , sušenie a mrazenie, antibiotiká (nizín, tylozín, subtilín atď.), chemické konzervovadlá (kyselina sorbová, kyselina benzoová, CaCO₂, SO₂). Nepriaznivé účinky samotného ožarovania možno použitím týchto kombinácií znížiť a súčasne dosiahnuť nielen aditívny, ale aj synergický účinok. Výsledkom sú výrobky s vysokou nutričnou a senzoricou akosťou pri znížených nákladoch počas spracovania (Combination Processes ..., 1981). Výhoda kombinácie týchto techník je však obmedzená, preto je nutné optimalizovať podmienky, pri ktorých sa realizujú. Veľká pozornosť sa doposiaľ venovala najmä kombinovanému účinku teplo-ionizujúceho žiarenia, pretože táto metóda je vhodná na konzervovanie hlavne mäsových výrobkov (šunka, údeniny), zeleniny (R a o, V a k i l, 1985), ale aj hotových mäsových a mäsozeleninových pokrmov (N i e m a n d et al., 1983).

Z našich experimentálnych skúseností s aplikáciou kombinácie zníženej intenzity termosterilizácie (35 min/121 °C) a rôznych dávok ionizujúceho žiarenia (0,5–9,5 kGy) v jednozložkových (hovädzie mäso vo vlastnej šťave, karfiol v slanom náleve) a v dvojjložkových výrobkoch typu hovädzie mäso s karfiolom vyplynul záver, že optimálnym bol režim 35 min/121 °C + 4–5 kGy. Takto vyrobené produkty si oproti konvenčne pripraveným (60 min/121 °C) zachovali primeranú nutričnú a štandardnú mikrobiologickú a senzoricú akosť, a to počas relatívne dlhého skladovania (do 240 dní) (H o z o v á, Š o r m a n, 1991; T a k á c s o v á et al., 1992).

V literatúre sa popisujú modelové pokusy aplikácie tepla a ožarovania na prežívanie spór mikromycét (*Aspergillus flavus* Link NRRL 5960) pri rôznych podmienkach (RV, dávka žiarenia, čas) (O d a m t t e n et al., 1985), ale aj pôsobenie X-lúčov v kombinácii s rôznymi koncentraciami NaCl (0,3 a 6%) pri rôznych teplotách na prežívanie salmonel (C z c z a w i n s k a et al., 1983). Výsledky ukázali, že sólovo aplikované ožarovanie spôsobilo zníženie počtu živých buniek, kombináciou ožarovania s NaCl sa dosiahol slabý synergický efekt. Napriek širokým možnostiam, ktoré poskytuje kombinácia ionizujúceho žiarenia s inými konzervačnými metódami, však určitá psychologická bariéra a v nemalej miere aj ekonomické aspekty (finančne náročné priemyselné žiariče) zabraňujú jej rozsiahlejšiemu uplatneniu v priemyselnej praxi.

Antibiotiká v kombinácii s inými konzervačnými metódami

Kombinácia termosterilizácie a antibiotík, napr. nizínu, je jednou z ďalších možností dosiahnutia požadovaného sterilizačného účinku pri aplikácii zníženej intenzity zahrievacieho režimu. Podľa Potravinárskeho kódexu (1996) o použití cudzorodých látok v požívatinách platí, že je možné použiť nízku v maximálnej koncentrácii 12,5 mg na 1 kg týchto potravín: pekárskych výrobky, sterilizovaná a nakladaná zelenina, zahustené mliečne výrobky, dezerty, syry, hotové jedlá, polokonzervy, majonézy, majonézové výrobky a omáčky, krémy a pivo. Okrem nizínu sa najlepšie z potravinárskych antibiotík osvedčil tylozín a subtilín, avšak hľadajú sa aj ďalšie spôsoby aplikácie antibiotík s kombináciou so skladovaním pri nízkej teplote, s ionizujúcim žiarením a rôznymi chemickými preparátmi. Napr. binárna a trinárna kombinácia nizínu a tylozínu s etyl- a propylesterom kyseliny p-hydroxybenzoovej má synergický účinok na *Lactobacillus buchneri*, s kyselinou sorbovou a benzoovou dochádza k aditívnemu účinku. Proti *Staphylococcus aureus* pôsobí kombinácia nizín-kyselina benzoová a nizín-etyléster kyseliny p-hydroxybenzoovej adične s ľahkým synergizmom. Kombinácia tylozínu s kyselinou benzoovou a sorbovou pri koncentrácii tylozínu nad 50 % pôsobí synergicky. Kombinácia nizínu s kyselinou mravčovou má silný synergický účinok na *Escherichia coli*. Prídavok všetkých troch konzervačných látok, najmä etylesteru kyseliny p-hydroxybenzoovej, jed-

noznačne zvyšuje účinok kombinácie nízínu a tylozínu (Š o r m a n et al., 1985). J a y (1983) uvádza, že kombinácia dusitanu a nízínu môže synergicky pôsobiť proti spórarnému *Clostridium botulinum*. Inými často používanými antibiotikami sú aureomycín, príj. terramycín na potlačenie rozvoja psychrotolerantných hnilobných baktérií, chlortetracyklín alebo nystatín v kombinácii s inými konzervačnými činidlami. V literatúre posledných 10 rokov sme nenašli žiadne údaje o použití antibiotík v kombinácii s inými metódami – či už z hľadiska výskumu, alebo praktickej aplikácie.

Chemické konzervačné a antioxidačné látky v kombinácii s inými konzervačnými metódami

Z iných netradičných kombinácií konzervácie potravín možno spomenúť kombináciu konzervovadiel s predbežným alebo súčasným poškodením mikroorganizmov, napr. pôsobením tepla, chladu, ionizujúceho žiarenia, vylúčením kyslíka z prostredia a pod., alebo možno kombinovať viaceré chemické konzervačné činidlá navzájom. Ide o kombinovanie konzervovadiel (kyselina mravčia, benzoová, etyl- a propylester kyseliny p-hydroxybenzoovej) s organickými kyselinami, anorganickými soľami, antibiotikami (tetracyklín, chlortetracyklín, neomycín, chloramfenikol a i.). Pri kombinácii dvoch alebo viacerých konzervovadiel navzájom, ktoré spolu chemicky nereagujú, môže dôjsť ku sčítaniu ich účinkov alebo ich výsledný účinok môže byť nižší, než by sa očakávalo pri jednoduchom sčítaní ich účinnosti. Niekedy ide zasa o synergizmus spôsobený špecifickými vplyvmi jedného činidla na druhé, čím môže dôjsť k zosilneniu ich spoločného účinku. V literatúre sa popisuje použitie butylhydroxianizolu (BHA), terciárneho butylhydrochinónu (TBHCH) a sorbátu draselného, jednotlivito i kombinovane, NaCl s dusitanmi, dusitanov so sorbátom, dusitanov s EDTA, ďalej propionát sodný v kombinácii so záhrevom – pôsobiacich ako antimikrobiálne a antioxidačné faktory (R a c c a h, 1984).

K i t a g a w a a T a n i (1984) zaznamenali synergicky zvýšený účinok pri aplikácii sorbátu draselného (20 000 mg/kg) v kombinácii s tiabendazolom (1 000 mg/kg) na rast *Penicillium digitatum* a *P. italicum*. R o b a c h (1980) poukázal na to, že použitie sorbátu draselného v kombinácii s NaCl, BHCH, BHA alebo EDTA vykazovalo synergický účinok proti rastu *Staphylococcus aureus*. B e a c h a t (1981) zistil synergické účinky sorbátu draselného a benzoátu sodného v kombinácii s tepelnou inaktívaciou kvasiniek. Tento vplyv bol markantný pri pH nižšom ako 5,5. Uvedenou kombináciou aditív – sorbátu draselného (100 mg/kg) a záhrevu (45–65 °C v časových intervaloch 80 min) – sa zabezpečila totálna inhibícia kvasiniek, zodpovedajúca desaťnásobnému sólovo použitému tepelnému zásahu. Toto zistenie má veľký význam z energetického, a najmä z nutričného hľadiska. C o o k a P i e r s o n (1983) zistili aditívnu inhibíciu rastu *Salmonella typhimurium* pri použití kombinácie kyseliny p-hydroxybenzoovej a BHA. Hexametfosfát (HP), ktorý sa využíva na

zlepšenie akosti spracovaných potravín, preukázal antimikróbný účinok proti G⁺, ale nie proti G⁻ baktériám. Estery p-hydroxybenzoovej kyseliny (PHBAE) sú výborné konzervovadlá, ale ich antimikrobiálny účinok proti G⁻ baktériám je slabý. Prítomnosť HP a PHBAE však poskytla v kombinácii silný antimikrobiálny účinok proti *Escherichia coli* JE 1011. Synergický účinok sa zosilňoval zahrievaním pri vyššej teplote, s predĺžovaním alkylového reťazca a zvýšením hydrofóbnosti PHBAE (T a t s u g u c h i, W a t a n a b e, 1983).

L i g a F u n g (1984) študovali účinnosť nájdených kombinácií BHT, BHA, TBHCH a sorbátu draselného v prevencii tvorby aflatoxínov *Aspergillus parasiticus* v médiu a v modelových vzorkách bravčového mäsa. Konzervačný systém vykazoval len aditívny antimikrobiálny účinok jednotlivých komponentov. Zistilo sa, že sólovo použité BHA ovplyvňovalo gramnegatívnu mikroflóru mäsa a redukoval populáciu *Salmonella typhimurium*. Použitím kombinovaného účinku BHA a sorbátu draselného sa letalita patogénov zvýšila až o 4 log poriadky.

S t e v e n s o n a S h a v e r (1983) zistili pri kombinovaní účinku peroxidu vodíka (0,5–1%) a UV žiarenia (254 nm), že pôsobia synergicky na deštrukciu bakteriálnych spór *Bacillus* a *Clostridium*, najmä pri ich súčasnej aplikácii.

Medzi dôležité synergetiká s antioxidačným účinkom sa zaraďuje lecitín (tuky a pekárenské výrobky pri použití 5 g/kg), ako aj kyselina citrónová a jej estery. Podstata jej účinku spočíva v inaktivácii stopových množstiev kovov tvorbou chelátov. Jej monoester účinkuje synergicky, kým diestery a triestery pôsobia prevažne ako emulgátory. Používa sa v kombináciách od 0,2 do 1,5 g/kg potraviny. Okrem aplikácie v tukoch sa používa aj na iné účely v rôznych potravinách.

Ďalšou látkou so synergickým účinkom je kyselina vínna a jej sodná soľ. Pomocou nej možno pri koncentráciách okolo 2 g/kg oddialiť indukčnú periódu oxidácie (N a s n e r, 1985).

Z uvedeného prehľadu vidieť, že použitie konzervačných látok spolu s inými metódami konzervácie má veľkú budúcnosť. Kombinovanou aplikáciou možno často dosahovať aditívne, prípadne až synergické účinky obmedzením pridaného množstva konzervačných činidiel, čím sa zníži, prípadne aj vylúči zdravotné riziko.

Iné netradičné kombinácie konzervačných metód

Ďalšou možnosťou pri spracovaní potravín je použitie mikrovlnovej (MV) energie v kombinácii s inými druhmi ohrevu, napr. s horúcim vzduchom, IČ žiarením, varením, pasterizáciou, sušením pri normálnom alebo zníženom tlaku, pečením, pražením atď. Kombináciou MV ohrevu s inými konzervačnými postupmi možno dosiahnuť lepšie výsledky než pri použití súborov aplikovaných zákrokov. Prínáša totiž celý rad výhod podporujúcich jeho rozšírenie v praxi, ako je: rýchlosť ohrevu, zníženie času spracovania, zlepšenie kvality (skrátene času záhrevu),

zabránenie tvorby niektorých nežiaducich látok, rýchlu inaktiváciu enzýmov a zlepšenie nutričných a senzorickej ukazovateľov (Decareu, 1986).

Za účelom predĺženia údržnosti spracovávaného potravinového materiálu je účelné použiť kombinovanie dehydratácie s inými doplnkovými a prídavnými konzervačnými metódami, napr. s teplom, ionizujúcim žiarením, chladom, vylúčením kyslíka, s konzervačnými činidlami.

K dehydratačným procesom patrí aj expanzné a tiež azeotropické sušenie, ktoré možno použiť najmä v kombinácii so zmrazovaním (Šormán et al., 1985). Novšie literárne rešerše sa, žiaľ, nezmenšujú o výsledkoch experimentov pri použití dehydratácie v kombinácii s uvedenými postupmi, takže o prípadnom aditívnom alebo synergickom účinku možno uvažovať len v hypotetickej rovine.

Záver

Na základe uvedeného prehľadu možno konštatovať, že doteraz nebola vypracovaná všeobecne platná teória kombinácie metód konzervácie potravín, ktorá by na vedeckom základe rozvíjala tento úsek vedeckého bádania i praktickej aplikácie v priemyselnom meradle. Preto je naliehavé, aby sa tejto otázke venovala osobitná pozornosť, a to ako z hľadiska štúdia teoretických základov, tak aj z hľadiska štúdia praktických aspektov binárnych, trinárnych alebo aj viacnásobných kombinácií konzervačných metód na predĺženie trvanlivosti potravinárskych produktov.

Literatúra

- BEACHAT L. R. (1981): Synergic effect of potassium sorbate and sodium benzoate on thermal inactivation of yeasts. *J. Food Sci.*, **46**: 771–777.
- Combination Processes in Food Irradiation (1981): Proc. Int. Symp. Colombo, 24–28 November, 1980. Int. Atomic Energy, Vienna: 467.
- COOK F. K., PIERSON M. D. (1983): Inhibition of bacterial spores by antimicrobials. *Food Technol.*, **37**: 115–121.
- CZCZAWINSKA M., CZCZAWINSKI J., SZULC M. (1983): Combined effect ionizing and sodium chloride upon the behaviour of salmonella in meat. *Microb. Assoc. Interact. Food Proc.* 12th Int. IUMS-ICFMH Symp.
- DECAREAU R. V. (1986): Microwave food processing equipment throughout the world. *Food Technol.*, **40**: 99–105.
- FAO/IAEA/WHO Expert Committee (1981): Wholesomeness of irradiated food. Report of Meeting 27 October – 3 November 1980, Geneva, Wld Hlth Org. Tech. Rep. Ser. No 659.
- HOZOVÁ B., ŠORMAN L. (1991): Combination of irradiation and thermal processing. *Food Irradiation*. Elsevier Appl. Sci. Publ.: 207–234.
- HOZOVÁ B., DRDÁK M., RAJNIAKOVÁ A. (1989): Vplyv netradičných metód konzervácie (fytoncidy a termosterilizácia) na mikrobiologické a nutričné vlastnosti potravín. *Bull. PV*, **28**(8): 253–263.
- HOZOVÁ B., TAKÁCSOVÁ M. (1992): Vplyv biokonzervácie na mikrobiologické, biochemické, nutričné a senzorickej vlastnosti potravín. *Bull. PV*, **31**(11): 155–165.
- JAY J. M. (1983): Antibiotics as food preservatives. *Food Microbiology*. N.Y., London, Acad. Press: 117–143.
- KITAGAWA H., TANI T. (1984): Effect of potassium sorbate and thiabendazole mixture on the control of green and blue molds of citrus fruit. *Engei Gakkai Zasshi*, **52**: 464–468.
- LIG M. B., FUNG D. Y. C. (1984): Antimicrobial effects of selected antioxidants in laboratory media and in ground pork. *J. Food Protect.*, **47**: 428–433.
- NASNER A. (1985): Antioxidative properties of lecithin. *Fette, Seifen, Anstrichm.*, **85**: 477–481.
- NIEMAND J. G., van der LINDE H. J., HOLZAPFEL W. H. (1983): Shelf life extension of minced beef through combined treatments involving radurization. *J. Food Protect.*, **46**: 791–796.
- ODAMTTEN G. T., APPIAK V., LANGERAK D. I. (1985): *In vitro* studies on the effect of the combination treatment of heat and irradiation on spores of *Aspergillus flavus* LINK NRRL 5960. *Acta Alimentaria*, **14**: 139–150.
- PAISAN LOAHARANU (1994): Status and prospects of food irradiation. *Food Technol.*, **48**: 124–131.
- RACCAH M. (1984): The antimicrobial activity of phenolic antioxidants on foods: a review. *J. Food Safety*, **6**: 141–170.
- RAJNIAKOVÁ A., HOZOVÁ B., DRDÁK M., TAKÁCSOVÁ M. (1991): Využitie glycinu pri netradičnej metóde konzervácie. II. Vplyv kombinovanej konzervácie na sulfhydrylové skupiny. *Bull. PV*, **30**(10): 201–208.
- RAO V. S., VAKIL U. K. (1985): Effects of gamma radiation on cooking quality and sensory attributes of four legumes. *J. Food Sci.*, **50**: 372–375.
- ROBACH M. C. (1980): Use of preservatives to control microorganisms in food. *Food Technol.*, **34**: 81–84.
- STEVENSON K. E., SHAFER B. D. (1983): Bacterial spore resistance to hydrogen peroxid. *Food Technol.*, **37**: 111–114.
- ŠORMAN L., HOZOVÁ B., RAJNIAKOVÁ A., SALKOVÁ Z. (1988): Štúdium vplyvu vybraných kombinácií konzervačných metód na uchovateľnosť potravinárskych produktov. *Prům. Potr.*, **39**: 177–179.
- ŠORMAN L., RAJNIAKOVÁ A., HOZOVÁ B., ORAVCOVÁ V. (1985): Kombinovanie metód konzervácie potravín. *Prům. Potr.*, **36**: 11–13.
- TAKÁCSOVÁ M., ŠORMAN L., DUDÁŠOVÁ S., RAJNIAKOVÁ A., HOZOVÁ B., SLOSIAROVÁ J. (1992): Zmeny charakteristických vlastností lipidov vzoriek konzervovaných kombináciou termosterilizácie a ionizujúceho žiarenia. *Potrav. Vědy*, **10**: 293–302.
- TAKÁCSOVÁ M., DUDÁŠOVÁ S., HOZOVÁ B., RAJNIAKOVÁ A., MINAROVICOVÁ I. (1993): Zmeny lipidov pri kombinovanej metóde konzervácie potravín aplikáciou glycinu. *Potrav. Vědy*, **11**: 111–120.
- TATSUGUCHI K., WATANABE T. (1983): Synergic antimicrobial action of esters of p-hydroxybenzoic acid and hexametaphosphate to *Escherichia coli* JE 1011. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.*, **24**: 469–473.

Kontaktná adresa :

RNDr. Bernadetta Hozová, CSc., Slovenská technická univerzita, Chemickotechnologická fakulta, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika, tel.: + 421 7 5325 478, fax : + 421 7 393 198

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

The responsibility for the contents of a manuscript rests with the authors. They are strongly advised to get a critical review before submitting a manuscript. The Editorial Board will decide on publication, after considering the manuscripts scientific importance, contribution and quality, and the opinions and reviews by experts.

The manuscript should be typed with a wide margin, double spaced on standard A4 paper. A PC diskette with the complete text and including references, tables and figure legends of graphical documentation should be provided with manuscript, indicating the used editor program.

Manuscript should consist of the following sections: Title page, Abstract, Keywords, an instruction, Materials and Methods, Results, Discussion, References, Tables, Legends to figures.

The Title page must contain a informative title, complete name(s) of the author(s), the name(s) and address(es) of the institution(s) where the work was done, and the telephone, fax and e-mail numbers of the corresponding author.

The **Abstract** shall not exceed 120 words. It should state in short and concise form what was done and how, and should contain basic numerical and statistical data from the results. Keywords follow the abstract; they are ranked from general to specific terms, and are written in lower case letters and separated by semicolons.

The introduction (without a subtitle) should consist of a short review of literature relevant and important for the study. The reason(s) for the work may be included.

In **Materials and Methods**, the description of experimental procedures should be sufficient to allow replication. Abbreviations can be used if necessary; first use of an abbreviation should be just after its complete name or description. The International System of Units (SI) and their abbreviations should be used.

Results should be presented clear and concise.

The **Discussion** should interpret the results, without unnecessary repetition. Sometimes it is possible or advantageous to combine Results and Discussion in one section.

If Acknowledgments are needed, they are next.

References in the text to citations consist of author's name and year of publication. If there are more than two authors, only the first is named, followed by the phrase 'et al.'. The list of References should include only publications quoted in the text. These should be in alphabetical order under the first author's name, citing all authors, year (in brackets), full title of the article, abbreviation of the periodical, volume number, first and last page numbers.

Tables and Figures shall be enclosed separately. Tables are numbered in Roman, Figures in Arabic numerals. Each of them must be referred to in the text. Figures should be restricted to material essential for documentation and understanding of the text. Duplicated documentation of data in both tables and figures is not acceptable. All illustrative material must be of publishing quality. Both line drawing and photographs are referred to as figures. They cannot be redrawn by publisher. Photographs should have high contrast. Each figure should be accompanied by a concise, descriptive legend.

Reprint: Thirty (30) reprint of each paper are supplied free of charge.

POKYNY PRO AUTORY

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu i kvalitě práce.

Rukopis (text, tabulky, literatura, abstrakt a závěr) musí být psány s dvojitými mezerami mezi řádky na papíru formátu A4. K rukopisu je vhodné přiložit disketu s textem práce, popř. grafickou dokumentací pořízenou na PC s uvedením použitého programu.

Vědecké práce musí mít toto členění: titulní strana, abstrakt a klíčová slova, krátký přehled literatury (bez nadpisu úvod), materiál a metody, výsledky, diskuse, literatura, tabulky a obrázky včetně popisů.

Titulní strana musí obsahovat název práce, plné jméno autorů, název a adresu instituce, kde byla práce dělána, akademické, vědecké a pedagogické tituly, číslo telefonu a faxu a e-mail adresu kontaktního autora.

Souhrn musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, má obsahovat základní číselné údaje včetně statistických hodnot. Nemá překročit 120 slov. Klíčová slova (KEY words, index terms) se připojují po vynechání řádku pod souhrn. Řadí se směrem od obecnějších výrazů ke konkrétním; začínají malým písmenem a oddělují se středníkem.

Materiál a metody: Model pokusu musí být popsán podrobně a výstižně. Popis metod by měl umožnit, aby kdokoli z odborníků mohl práci opakovat. Metody se popisují pouze tehdy, jsou-li původní. Zkratky jsou používány jen pokud je to nutné; první použití zkratky musí být uvedeno úplným popisem nebo vysvětlením. V názvu práce a v souhrnu je vhodné zkratky nepoužívat. Používané měrové jednotky musí odpovídat soustavě měrových jednotek SI.

Výsledky: Doporučuje se nepoužívat k vyjádření kvantitativních hodnot tabulek a dát přednost grafům, anebo tabulky shrnout v statistickém hodnocení naměřených hodnot. Tato část práce by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

Diskuse obsahuje zhodnocení práce. Je přípustné spojení s předchozí kapitolou (Výsledky a diskuse).

Literatura: Odkazy na literaturu v textu se provádějí uvedením jména autora a roku vydání publikace. Při větším počtu autorů se v textu uvádí první z nich a za jméno se doplní zkratka „et al.“. V části Literatura se uvádějí jen práce citované v textu. Citace se řadí abecedně podle jména prvního autora: příjmení (verzálkami), zkratka jména, rok vydání (v závorce), plný název práce, úřední zkratka časopisu, ročník, první–poslední stránka; u knih je uvedeno místo vydání a vydavatel.

Tabulky a obrázky: Tabulky, obrázky a fotografie se dodávají zvlášť a všechny musí být citovány v práci. Akceptovány budou jen obrázky, které jsou nezbytné pro dokumentaci výsledků a umožňují pochopení textu. Není přípustné dokumentovat výsledky jak v tabulkách, tak na grafech. Všechny ilustrativní materiály musí mít kvalitu vhodnou pro tisk. Fotografie i grafy jsou v textu uváděny jako obrázky a musí být průběžně číslovány. Každý obrázek musí mít stručný a výstižný popis.

Separáty: Autor obdrží zdarma 30 separátních výtisků práce.

CONTENTS

Hinková A., Chotěborská P., Melzoch K., Rychtera M., Bubník Z.: Ethanol fermentation of grain mashes with regard to quality of distiller's slops	41
Čechová M., Medonosová P., Příhoda J.: The decrease of energetic value of bakery products using a commercial resistant starch	47
Greif G., Greifová M., Karovičová J.: Cadaverine and ammonia production by some bacteria under model conditions (in Slovak)	53
Erban V., Gabrovská D., Vavreinová S.: Effect of some vegetable oils on a select microorganisms (in Czech)	57
Hozová B., Hudecová D., Grejtáková M.: Evaluation of INTEST, DELVOTEST SP and PENZYME S 100 in comparison with a standardized disk diffusion method for detection of β -lactam antibiotics in milk (in Slovak)	61
Prokúpková L., Novotná P.: Ketchup colour (in Czech)	65
Baxa S.: Extraction of chicory (in Slovak)	72

REVIEW

Hozová B., Korbašová M.: The use of additive and synergic effects of combination preservation methods for the shelf-life prolongation of food products (in Slovak)	77
--	----

OBSAH

Hinková A., Chotěborská P., Melzoch K., Rychtera M., Bubník Z.: Etanolová fermentace obilných zápar se zřetelem na kvalitu lihovarských výpalků	41
Čechová M., Medonosová P., Příhoda J.: Snižování energetické hodnoty pekařských výrobků rezistentním škrobem	47
Greif G., Greifová M., Karovičová J.: Tvorba kadaverínu a amoniaku činnosťou niektorých baktérií za modelových podmienok	53
Erban V., Gabrovská D., Vavreinová S.: Vliv některých rostlinných olejů na vybrané mikroorganismy ..	57
Hozová B., Hudecová D., Grejtáková M.: Hodnotenie INTESTU, DELVOTESTU SP A PENZYMU S 100 v porovnaní so štandardizovanou diskovou difúznou metódou na detekciu β -laktámových antibiotík v mlieku	61
Prokúpková L., Novotná P.: Barva kečupů	65
Baxa S.: Extrakcia čakanky	72

REVIEW

Hozová B., Korbašová M.: Využitie aditívneho a synergického účinku kombinácie konzervačných metód na predĺženie trvanlivosti potravinárskych produktov	77
--	----

Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

Míka V.: Mezinárodní konference o NIR spektroskopii	52
---	----

Vědecký časopis CZECH JOURNAL OF FOOD SCIENCES (Potravinářské vědy) ● Vydává Česká akademie zemědělských věd – Ústav zemědělských a potravinářských informací ● Redakce: Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/25 10 98, 02/24 25 79 39 l. 203, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@login.cz ● Tisk: ÚZPI Praha ● © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1998