

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

Czech Journal of
FOOD SCIENCES

Potravinářské vědy

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

5

VOLUME 16
October 1998
ISSN 1212-1800

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

Mezinárodní vědecký časopis vydávaný z pověření Ministerstva zemědělství České republiky a pod gestí Česká akademie zemědělských věd

Abstracts from the journal is comprised in Agrindex of FAO (AGRIS database), Food Science and Technology Abstracts, Dairy Science Abstracts, Chemical Abstracts, 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 Velišek, 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 Lásztity (Hungary), O. Univ. Prof. Dr. Werner Pflannhauser (Austria), Prof. Ing. Alexander Pribela, 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.

40 let Výzkumného ústavu potravinářského v Praze

Každé výročí je vhodnou příležitostí ohlédnout se zpátky a podívat se na vykonanou práci i na odborné zaměření ze současného zorného úhlu i časového odstupu a zároveň se z minulosti poučit pro budoucnost.

V letošním roce slaví Výzkumný ústav potravinářský Praha (VÚPP) čtyřicáté výročí svého vzniku. Počátky jeho výzkumné činnosti v oblasti potravinářských technologií, techniky a výživy včetně informatiky však sahají mnohem dále, až do poválečných let. Legislativním podkladem pro oblast výzkumu a technického rozvoje bylo vládní nařízení č. 145 z roku 1945 o založení, organizaci a působnosti Státního úřadu plánovacího (SÚP), kterému byly v roce 1946 uloženy určité úkoly, mimo jiné i organizace výzkumu a příprava výzkumných plánů. Pro tyto účely byla při SÚP zřízena Státní výzkumná rada, jejímž úkolem bylo zajistit řízení a koordinaci prací ve výzkumu. Rada byla rozdělena do 15 odborů, ve 13. odboru byl soustředěn výzkum v odvětví výroby potravin a výživy.

V roce 1947 byl vládním usnesením zřízen samostatný organizační útvar – Svaz pro výzkumnictví v průmyslu výživy (SVPV), jehož hlavním posláním bylo plnit úkoly přenesené ze SÚP a Ministerstva výživy, koordinovat zaměření výzkumu s potřebami průmyslu a informovat průmyslové závody a výzkumná a vývojová pracoviště o všech novinkách na tomto úseku. V té době se začínala utvářet výzkumná základna pro jednotlivé obory formou výzkumných ústavů (Výzkumný ústav chladírenský a mrazirenský, Ústav pro výzkum masa, Výzkumný ústav obalový, Výzkumný ústav technologií ovoce a zeleniny, Výzkumný ústav pro společné stravování, Výzkumný ústav pro čokoládu, cukrovinky a příbuzná odvětví), dále Prototypové dílny SVPV a Zkušebna mlékařských strojů.

Výhláškou ministryně výživy byl k 2. říjnu 1950 zřízen Výzkumný ústav ministerstva výživy, který byl tvořen SVPV a jmenovanými ústavu. Tento stav však neměl dlouhého trvání, neboť dalším výnosem ministryně výživy byl k 1. 1. 1952 tento ústav rozdělen na dva základní ústavy, které se zabývaly průřezovou problematikou, a to na Výzkumný ústav potravinářské technologie a Výzkumný ústav pro mechanizaci a ekonomiku potravinářského průmyslu, a na ústav oborově, jejichž náplní bylo řešit výzkumné problémy příslušných potravinářských oborů, kam byly rovněž organizačně zařazeny. Jejich řada byla doplněna o Výzkumný ústav mlékárenský, Výzkumný ústav tukového průmyslu a Výzkumný ústav mlýnsko-pekárenský.

K 1. 4. 1958 byl výnosem tehdejšího Ministerstva potravinářského průmyslu a výkupu vytvořen Ústřední výzkumný ústav potravinářského průmyslu (ÚVÚPP), který převzal působnost obou již zmíněných průřezových ústavů. Toto datum je tedy považováno i za datum vzniku současného ústavu, i když byl v podstatě logickým pokračovatelem činností prováděných v ústavech, ze kterých byl vytvořen. Do tohoto ústavu přešla většina odborníků, takže kontinuita výzkumu byla zachována. V rámci ústavu byl nově vytvořen další útvar – Středisko technických informací potravinářského průmyslu (STI PP), které v dalších letech sehrálo významnou úlohu při organizování oborových informačních středisek. V rámci STI PP byla rovněž postupně vybudována odborná potravinářská knihovna, nejrozsáhlejší v republice. Zároveň byla zřízena pobočka ÚVÚPP se sídlem v Bratislavě. Ta byla součástí ústavu až do 1. 1. 1969, kdy byl zřízen samostatný Výzkumný ústav potravinářský.

V červenci roku 1967 přešel ústav pod přímé řízení Ústředí zemědělského a potravinářského výzkumu, z něhož později vznikla Česká akademie zemědělská. S účinností od 1. 1. 1969, zároveň s oddělením bratislavské pobočky byl změněn název ústavu (Česká akademie zemědělská – Výzkumný ústav potravinářského průmyslu). Po zrušení České akademie zemědělské v roce 1974 byl ústav začleněn jako Výzkumný ústav potravinářského průmyslu do resortní vědecko-výzkumné základny Ministerstva zemědělství a výživy.

Od svého založení až do konce roku 1991 byl ústav rozpočtovou organizací a samostatným právním subjektem. V souladu se zakládací listinou měl jako jediný resortní ústav v oblasti potravinářského průmyslu a výživy provádět všestranný výzkum a informatiku pro potravinářský průmysl v oborech potravinářské chemie a biochemie, potravinářského inženýrství a automatizace potravinářských výrob, balení a manipulace s potravinářskými výrobky, vývoje a konstrukce unikátních strojních zařízení pro potravinářský průmysl i komplexní ochrany potravinářských surovin, výrobků a provozoven před škůdci živočišného původu. Teritoriální působnost ústavu se vztahovala na území České republiky. Na některých úsecích byla jeho činnost na základě pověření MZVŽ ČR a dohod s federálním a slovenským ministerstvem rozšířena na celou federální republiku, především ve funkcích odvětvového informačního střediska pro odvětví výroby potravin a pochutin a vedoucího pracoviště vědecko-technického rozvoje pro oblast potravinářského průmyslu.

K významné změně došlo počátkem roku 1992, kdy se ústav stal z rozpočtové organizací příspěvkovou, takže zřizovatel (MZe ČR) začal hradit pouze část rozpočtu a zbytek bylo nutné hradit aktivitami, které přinášely potřebné a nezbytné finanční zdroje. K tomuto datu (1. 1. 1992) ústav změnil svůj název na Výzkumný ústav potravinářský Praha. Významným mezníkem bylo rovněž přestěhování ústavu ze starých, současným požadavkům již nevyhovujících prostor na Smíchově do nově postavené moderní budovy v Praze-Hostivaři.

V rámci probíhající restrukturalizace vědecko-výzkumné základny resortu Ministerstva zemědělství bylo z ústavu k 1. 1. 1993 vyloučeno Středisko potravinářských informací, které se stalo součástí nově vytvořeného, samostatného Ústavu zemědělských a potravinářských informací. V roce 1995 přešlo oddělení ochrany zásob do Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Praze-Ruzyni, kde pokračuje v práci se stejným zaměřením.

Přechod ústavu z rozpočtové na příspěvkovou organizaci si logicky vynutil provedení určitých korekcí a změn, neboť bylo třeba podporovat i takové práce, které přinášely část finančních prostředků nezbytných k zajištění

činnosti ústavu v plném rozsahu. Řadu činností vykonávaných dříve musel ústav opustit nebo sloučit či jinak zaměřit a řídit strukturu výrazně zjednodušit. Ekonomika veškerého počínání se stala jednou z priorit.

Všechny tyto změny a vnější zásahy měly samozřejmě dopad i na organizační strukturu a personální vybavení. Stále tvrdší ekonomické podmínky se podepsaly především na počtu pracovníků, jichž je dnes v porovnání s „předrevolučním“ obdobím méně než polovina. Chybějící odborné kapacity se snaží ústav nahradit externí spoluprací, zejména s vysokými školami. Spolu s Vysokou školou chemicko-technologickou – Fakultou potravinářské a biochemické technologie a Fakultou strojní Českého vysokého učení technického založil v roce 1996 Centrum potravinářských technologií a techniky podporované MZe ČR, které je zaměřeno zejména na pomoc malým a středním tuzemským potravinářským firmám.

Ústav poskytuje celou řadu služeb především potravinářským výrobcům a přes současnou velmi složitou ekonomickou situaci v podnikatelské sféře se mu daří v posledních letech zhruba polovinu finančních potřeb zabezpečit ze zdrojů mimo státní rozpočet. Možná i tato skutečnost byla jedním z důvodů, že v roce 1995 byl ústav Ministerstvem zemědělství zařazen spolu s dalšími třemi resortními ústavami mezi objekty určené k privatizaci. Byl zpracován a odevzdán povinný privatizační projekt, který předpokládal další výzkumnou činnost ústavu jako jediného komplexního pracoviště pro potravinářský výzkum v České republice. Další privatizační kroky však již nebyly provedeny pro neshody o dalším postupu mezi zakladatelem a Ministerstvem pro privatizaci. To lze považovat do určité míry za štěstí, neboť z ostatních konkurenčních projektů podaných různými organizacemi zcela jasně vyplýval jejich hlavní zájem nikoli o vlastní a do budoucna perspektivní činnost ústavu ve prospěch tuzemského potravinářského průmyslu, ale především o moderní budovu, stojící v současné době na atraktivním místě, vhodném pro různé druhy podnikání.

Jelikož privatizace VÚPP zůstala nedořešena, je ústav v současné době ve velmi zvláštním postavení. Ze strany zakladatele je financován pouze účelovými prostředky na řešení konkrétních projektů nebo z činnosti na základě smluv, přitom je ovšem limitován a regulován ve všech ohledech (v počtu pracovníků, mzdových fondech atd.) jako každá jiná příspěvková organizace. Nadále si musí velkou část prostředků na existenci shánět poskytováním služeb. Jelikož tento podíl (cca 50 % rozpočtu) bude perspektivně prakticky nemožné dále zvýšit s ohledem na stávající zaměření ústavu, je cesta privatizace při objektivní nemožnosti nalézt vhodného perspektivního vlastníka zjevně nereálná a situaci je třeba řešit jinak. Zřejmě nejvhodnější bude transformace ústavu do podoby veřejnoprávní instituce, obdobně jako u ostatních resortních výzkumných ústavů, podle připravovaného Zákona o výzkumu a vývoji. Toto rozhodnutí ovšem musí přijmout vláda.

Z již uvedeného je zřejmé, že za uplynulých 40 let od založení až do současné podoby prošel ústav složitým vývojem. Za tuto dobu rovněž sehrál významnou úlohu v rozvoji potravinářské základny a přispěl k vyšší míře poznání v oblasti potravinářské chemie a biochemie, inženýrství a techniky, analytiky a výživy i při vývoji a konstrukci unikátních strojů pro potravinářské výroby. V ústavu vyrostla řada významných odborníků, z nichž někteří pracovali a pracují v různých vědeckých organizacích, na vysokých školách příslušných směrů i v zahraničních vědeckých společnostech. Ústav se rovněž podílí na mezinárodní spolupráci při řešení různých výzkumných úkolů. V minulých desetiletích byla tato spolupráce z pochopitelných důvodů do značné míry zaměřena na státy východní Evropy v rámci RVHP a spolupráce s pracovišti v západních státech byla sporadická. Tento stav se počátkem devadesátých let změnil, neboť některá pracoviště ústavu, konkrétně oddělení fyzikálních základů zpracovatelských procesů a oddělení potravinářského inženýrství, byla začleněna do řešení mezinárodních výzkumných problémů v rámci programu PECO a FAIR.

Ústav má dnes dvě pracoviště. V Praze 10-Hostivaři je sídlo ústavu a všech výzkumných pracovišť a v Hrušovanech nad Jevišovkou je vývojová základna potravinářské techniky, zabývající se vývojem, konstrukcí a výrobou unikátních strojů, přístrojů a zařízení pro potravinářské výroby.

Současná výzkumná činnost ústavu je v převážné míře zaměřena na projekty Národní agentury pro zemědělský výzkum (NAZY) a na několik projektů grantové agentury ČR. Výzkum je orientován na zdokonalování technologických postupů zpracování potravin včetně konečné kulinární přípravy, na speciální potraviny pro skupiny obyvatel s mimořádnými zdravotními nároky na výživu, studium fyzikálních vlastností potravin a potravinářských surovin včetně vedení široce využívané perspektivní databanky. Ústav rovněž zajišťuje širokou nabídku informací a služeb včetně analýz pro všechny zájemce z řad výrobců potravin. Do této kategorie spadá i pomoc při zavádění systému kritických bodů (HACCP) v potravinářských výrobcích. Pro kvalitní zajištění této činnosti s využitím mezinárodních zkušeností z EU byl založen společný projekt Ústavu pro výzkum výživy a potravin TNO (nizozemská organizace pro aplikovaný vědecký výzkum) a VÚPP, který zabezpečuje přenos nizozemských poznatků v oblasti zavádění systému HACCP v ČR.

Hlavním posláním ústavu je i nadále podpora zdravé a bezpečné výživy obyvatelstva. Tímto směrem jsou orientovány výzkumné projekty řešené v současné době i připravené pro další léta. Bližší informace o řešených projektech jsou uvedeny v ročníce ústavu za rok 1997 a z minulých let jsou k dispozici v ústavu nebo na příslušných stránkách Internetu (www.vupp.cz).

Ing. Jiří Celba, CSc.

ředitel ústavu

Spectrophotometric Determination of Iodine and its Content and Stability in Selected Food Raw Materials and Products*

Vlasta FIEDLEROVÁ

Food Research Institute Prague, Prague, Czech Republic

Abstract

FIEDLEROVÁ V. (1998): Spectrophotometric determination of iodine and its content and stability in selected food raw materials and products. Czech J. Food Sci., 16: 163–167.

The spectrophotometric method described is suitable for determination of total iodine in foods. It is based on the Sandell-Kolthoff reaction (catalytic action of I^- on the reaction between Ce^{4+} and As^{3+}) carried out after preliminary alkaline dry ashing in the presence of KOH , $ZnSO_4$ and $KClO_3$. The method is – as confirmed by the values of repeatability, recovery and comparison with standard reference materials – suitable for mineralizates containing not less than 2.5 ng in 1 ml. The method was applied to iodine determination in milk, cereals, eggs, meat, fish and other food materials. In bakery products iodine stability was examined during baking, the retention was within the limits 96.9–100.1%. No iodine losses were observed during 12 month storage of milk formula enriched with potassium iodate.

iodine determination; mineralization procedures; iodine stability; foods

Iodine is a very important trace element that – owing to its low concentration (tens to hundreds of $\mu\text{g}/\text{kg}$) requires very sensitive and reliable methods of analysis. No universal method for iodine determination in foods has been standardized so far. Standard methods, however, exist for the determination of inorganic iodine in milk (ISO/CD 1438 and AOAC 992.22) based on HPLC separation with electrochemical detection and the AOAC method 992.24 was adopted for iodine determination in ready-to-feed-milk-based infant formula with the application of ion-selective electrode. In addition to the procedures that require costly instrumental equipment (NAA, ICP-MS, X-ray fluorescence), the GC method with 2-iodo-3-pentane derivatization (Mitsuhashi, Kaneda, 1990), the HPLC with UV detection after derivatization to 4-iodo-2,6-dimethylphenol (Verma et al., 1992), the RP ion-pair LC with electrochemical detection (Sertl, Malone, 1993), etc. were used. The routine determination is most frequently performed by spectrophotometry based on the catalytic action of iodine ions in the oxidoreduction reactions. The majority of these methods is based on the Sandell-Kolthoff reaction, i.e. reduction of Ce^{4+} by As^{3+} under catalytic action of I^- ions (Sandell, Kolthoff, 1937). A method based on this principle has been used for routine iodine determination in urine and its various modifications (especially in automatized form) have been applied to iodine determinations in biological and some food

materials (Bednář et al. 1964; Aumont, Tressol, 1986, 1987; Fischer et al., 1986; Ayiannidis, Voulgaropoulos, 1988; Mahesh et al., 1992). The catalytic action of I^- ions on the reaction between SCN^- and NO_2^- (Moxon, Dixon, 1980; Kühne et al., 1993) has also been used for spectrophotometric determination of iodine. Garwin et al. (1994) compared the two methods and ascertained that the thiocyanate procedure provided a higher sensitivity and a lower variability especially at low iodine concentrations. The analysis requires, however, a UV/VIS spectrophotometer with a module for kinetic measurements.

Mineralization is the most critical operation in iodine determinations in biological materials. This applies both to acid digestion (Wiechen, Kock, 1984; Fischer et al., 1986) and to alkaline dry ashing. Alkaline dry ashing at temperatures up to 600 °C has been universally applied to determination of this factor in biological materials and foods. The dry ashing is performed in the presence of KOH (Aumont, Tressol, 1986, 1987) or KOH , K_2CO_3 and $ZnSO_4$ (Moxon, Dixon, 1980; Mahesh et al., 1992) or KOH , $ZnSO_4$ and $KClO_3$ (Bednář et al., 1964).

On basis of the above mentioned methods we evaluated a spectrophotometric procedure. The method is suitable for the determination of total iodine in foods under the conditions of a common chemical laboratory. We applied alkaline dry ashing in the presence of KOH , $ZnSO_4$

* This work was supported by grant No. EP 0960986254 of the National Agency of Agricultural Research.

and KClO_3 and a photometric determination based on the Sandell-Kolthoff reaction. We took into account especially the works of Bednář et al. (1964) and Mahesh et al. (1992). By this procedure we analysed iodine concentration in foods and food products. We also investigated iodine stability in bakery products during baking and in milk-based infant formula during storage.

MATERIAL AND METHODS

Material and Instruments

The samples of food raw materials or products were purchased in a normal market network. The samples of fresh milk originated from the collection region of the firm PMV, a.s., Zábřeh na Moravě and were taken in February, March and August 1995. The samples of infant formula were manufactured in the same place. Bread and pastry with iodised salt (edible rock salt with 24.2–26.0 mg I/kg, Solné mlýny, a.s., Olomouc) were prepared experimentally according to the procedures of Odkolek, a.s. Prague 5 (Kiev bread – baking time 45 min at 270–210 °C, pastry – baking time 12–13 min at 230–290 °C).

All chemicals applied were reagent grade, deionized water was used.

Absorbance was measured using PU 8800 Pye Unicam UV/VIS Spectrophotometer. Other appliances belonged to routine equipment of chemical laboratories (drying ovens, muffle furnace, ultrasonic bath, centrifuge and thermostatic water bath).

Sample Preparation

Test-tubes from hard-melting glass (17 × 100 mm) are filled with maximally 0.15 g of sample (calculated at dry material). Samples with high water content can be preliminarily treated by lyophilization. Then 2 ml 2M KOH, 1 ml zinc sulphate (10 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ in 100 ml water) solution and a few crystals of KClO_3 are added. The sample is dried in an oven at 115 °C for 14–19 h. The dry ashing is carried out in a muffle furnace at a temperature gradient from 200 to 600 °C with 1–3 h incubation at 600 °C. At this temperature the furnace is four times ventilated for approximately 10 s. The time of incubation depends on the nature of the ashed material. The test-tubes are placed into the muffle-furnace in a leaning position. To achieve a white colour of ash it is moistened with 1 ml water, dried, and the ashing is finished by additional heating to 600 °C for 30 min. New test-tubes should be used for every determination. After cooling the residue is suspended in 6 ml water and placed for 10 min into an ultrasonic bath. Then the samples are centrifuged at 10 000 rpm for 10 min. The supernatant is used for the determination.

Standards

Stock solution of KI containing 1000 mg I/1000 ml water (e.g. standard calibration solution Astasol, Analytika, s.r.o., Prague) is gradually diluted to the working solution containing 1 µg I/ml. This solution is used for the preparation

of calibration samples containing 10–100 ng I/ml. A amount of 1 ml of the calibration solution, 1 ml of 2M KOH and 4 ml of water are pipetted into test-tubes. Blank contains 1 ml 2M KOH and 5 ml water. The series of calibration solutions is not ashed, 2 ml of solution is pipetted into test-tubes with ground neck for the determination itself.

Spectrophotometric Determination

The supernatant (0.5–2 ml according to the iodine concentration expected) is pipetted into ground-necked tubes and the solution is filled up to 2 ml with 0.33 M KOH, 2 ml of arsenic (III) reagent are added [2.965 g As_2O_3 , 3 g KOH in 50 ml water; 29.2 g NaCl in 100 ml water; 60 ml concentrated H_2SO_4 in 250 ml water; all is combined and made up with water to 500 ml], the sample is stirred and incubated for 10 min in an ice-bath (max. 4 °C). Then 2 ml of ceric (IV) agent [1.58 g $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{SO}_4)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in 50 ml water, and 40 ml concentrated H_2SO_4 are combined and made up to 500 ml with water] are added, the sample is stirred and placed in a water-bath (40 °C) for 20 min. After cooling in an ice-bath the reaction is stopped by an addition of 0.5 ml of brucine solution [1 g brucine and 1.2 ml glacial acetic acid are filled up to 100 ml with water]. After mixing the test-tubes are placed in a hot-air drying oven (105 °C) for 15 min. The absorbance of cooled samples is measured at 430 nm using water as blank. The determination is carried out in duplicate from each test-tube used for ashing. The calibration solutions are measured with each sample series.

The calibration graph has an exponential course and it is evaluated by the procedure of non-linear regression – iodine in the samples is thus determined. A reference material should be ashed with each series of samples as a control.

RESULTS AND DISCUSSION

Mineralization is the crucial operation for the determination of trace elements in food matrix. We applied test-tubes made from hard-melting glass for alkaline ashing and added agents accelerating this process (ZnSO_4 , KClO_3). Table I shows mean concentrations and statistical evaluation for 10 analyses of dry milk at different mineralization procedures. The results are comparable, the

I. Effect of dry-ashing procedure (addition to dry full-fat milk before dry ashing, $n = 10$)

Dry ashing procedure	Iodine content ± SD interval [µg/kg]	95% confidence CV	[µg/kg]
KOH, ZnSO_4 added successively	725 ± 59	8.1	682–768
KOH, ZnSO_4 added simultaneously	759 ± 54	7.1	720–798
KOH, ZnSO_4 + KClO_3	820 ± 59	7.2	777–863

SD – standard deviation; CV – coefficient of variation [%]

method with KClO_3 is suitable for acceleration of the mineralization (B e d n á ř, 1964). Successive addition of KOH and ZnSO_4 did not yield noncarbonaceous material as M a h e s h et al. (1992) stated. We have therefore used the simultaneous addition of KOH, ZnSO_4 and KClO_3 as shown in the description of the method.

The mineralization of the standard solutions yields a very hard residue from which iodine is released only with extreme difficulty. We therefore tested the application of standard solutions without dry ashing (similarly like M o x o n, D i x o n, 1980, A u m o n t, T r e s s o l, 1986). At this procedure it is crucial to maintain the same alkalinity of samples and standard solutions. On basis of titrational alkalinity determination of the digested ash, we used 0.33M KOH for standard solutions and diluted the samples with the same solution if necessary.

The procedure using a calibration graph without dry ashing was verified using reference standard materials. It is advantageous because more samples can be analysed at once when their number is limited by the capacity of the muffle furnace.

II. Repeatability verification of the method

Sample	Iodine content [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	95% confidence CV	95% confidence [$\mu\text{g}/\text{kg}$]
Dry full-fat milk $n = 13$	414 \pm 49	11.9	384–444
Dry semi-skim milk $n = 8$	739 \pm 67	9.0	683–795
Dry full-fat milk $n = 10$	820 \pm 59	7.2	777–863

CV – variation coefficient [%]

V. Iodine content in some food raw-material and products

Product	n	Iodine content [$\mu\text{g}/\text{l}$, kg]	Mean	Median
Fresh milk, winter season	48	24–748	205	165
Fresh milk, summer season	30	16–345	119	91
Pasteurized milk	17	46–187	112	112
Yoghurt	9	43–260	165	132
Cheeses	9	108–295	177	182
Cottage cheese soft	4	93–320	193	
Dry milk – various fat content	11	570–1232	806	815
Cereals	25	24–43	31	32
Wheat flour	6	17–25	20	
Rye flour	4	21–35	27	
Bread, pastry	7	14–30	21	
Eggs	26	29–729	189	135
Pork	5	9.4–16.3	13.4	14.4
Beef	5	13.8–19.3	17.0	17.3
Sea fish	8	43–1451	393	267
Potatoes	6	0–10		
Apples	5	0–10		
Carrot	4	0–10		

III. Recovery of iodine added to dry milk and wheat flour ($n = 3$)

Sample	Iodine addition (ng I/sample weight [*])	Recovery [%]
Dry milk	10	101.9
	30	99.0
	50	92.4
Wheat flour	10	90.9
	30	82.3
	50	91.3

* 0.1 g for dry milk; 0.2 g for wheat flour

IV. Method verification using standard reference materials

Materials	Iodine content [mg/g]	
	certified	found
SRM 1549 non-fat milk powder $n = 10$	3.38 \pm 0.02	3.16 \pm 0.38
BCR 150 skim milk powder $n = 80$	1.29 \pm 0.09	1.09 \pm 0.08
SRM 1566a oyster tissue $n = 8$	4.46 \pm 0.42	4.19 \pm 0.15

Repeatability of the method was evaluated for three samples of dry milk with different iodine content (Table II), the values of CV fluctuated in the range 7.2–11.9%. Recovery was estimated by additions of 10–50 ng I to dry milk and

wheat flour before the dry ashing. The values obtained fell within the range 82.3 to 101.9% (Table III). Table IV shows a good agreement of the results obtained by the above method with certified iodine concentration of reference materials. The detection limit was determined as the triple value of SD of 10 results of blanks – it reached 2.5 ng/ml of mineralizate.

The results of iodine determination in some food raw materials and products are given in Table V. We investigated the important food sources of iodine. A low concentration of this factor is found in foods and food raw materials of plant origin owing to low iodine occurrence in soil in the region of Central Europe. Iodine content in milk and dairy products corresponds to the literature data (Hurrell et al., 1989; Lee et al., 1994), the region examined showed a fairly good saturation of milk with this factor. A significantly fluctuating iodine concentration occurs – according to our findings – in eggs where iodine levels depend on the nutrition of laying hens. As expected, a high iodine concentration was found in sea-fish.

The food industry contributes to the solution of iodine deficit in two ways. It means planned enrichment of some products determined for target population groups that are – from the aspect of iodine saturation – regarded as extremely risk-bearing and the application of iodized salt in food technologies (especially for products of meat and bakery industry). In this work we also examined the stability of iodine added in this way.

Iodine stabilities were within this investigation-examined in two samples of infant formula with added potassium iodate during their storage under normal conditions (20 °C, packed in inert atmosphere) and no significant io-

dine losses were observed for 12 months of storage. The results fluctuated within the reliability interval of the analytical method applied (Table VI).

We found no literature data on iodine stabilities during bread and pastry baking. More attention has been paid to the use of potassium iodate as an additive improving the processing of bread dough, its rising and thus also the volume and appearance of the final products. We therefore estimated iodine concentration in dough and in final products during six experimental bread baking, in which iodised salt was added (Table VII). After calculation for dry matter, a good stability of this factor was found during baking, the retention being 95.9–100.1%. The application of iodised salt did not affect the organoleptic properties of the final products.

VI. Iodine content in infant formula in relation to storage time (20 °C, packed in inert atmosphere)

Sample	Storage time [months]	Iodine content [µg/kg]
1	0	642
	4	640
	8	660
	12	643
2	0	962
	4	1 040
	8	1 050
	12	1 027

VII. Effect of baking on iodine stabilities in bakery products

Experiment No.	Type of product	Dry matter [g/100g]	Iodine content		Retention [%]	
			[µg/kg]	[µg/kg dry matter]		
1	Kievbread	dough	53.01	175.7	331.4	97.1
		final product	61.45	197.8	321.9	
2	Kievbread	dough	54.59	197.6	362.0	100.1
		final product	59.96	217.3	362.4	
3	Kievbread	dough	54.76	229.8	419.6	99.9
		final product	60.91	255.4	419.3	
4	Crisproll	dough	63.24	154.6	244.5	95.9
		final product	78.51	184.1	234.5	
5	Crisproll	dough	63.13	279.0	441.9	95.9
		final product	76.36	323.8	424.0	
6	Bun	dough	59.63	276.8	464.2	97.5
		final product	73.79	334.0	452.6	

References

- AUMONT G., TRESSOL J. C. (1986): Improved routine method for the determination of total iodine in urine and milk. *Analyst*, *111*: 841–843.
- AUMONT G., TRESSOL J. C. (1987): Rapid method for the direct determination of inorganic iodine in plasma using ion-exchange chromatography and the Sandell and Kolthoff reaction. *Analyst*, *112*: 875–878.
- AYIANNIDIS A. K., VOULGARPOULOS A. N. (1998): Catalytic determination of iodine in biological materials. *Analyst*, *113*: 153–157.
- BEDNÁŘ J., RÖHLING S., VOHNOUT S. (1964): Příspěvek k stanovení proteinového jodu v krevním séru. *Českosl. Farm.*, *13*: 203–209.
- FISCHER P. W. F., L'ABBÉ M. R., GIROUX A. (1986): Colorimetric determination of total iodine in foods by iodide-catalyzed reduction of Ce^{4+} . *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, *69*: 687–689.
- GARWIN J. L., ROSENHOLTZ N. S., ABDOLLAHI A. (1994): Two colorimetric assays for iodine in foods. *J. Food Sci.*, *59*: 1135–1136, 1143.
- HURRELL R. F. et al. (1989): In: RENNER E. (Ed.): *Micro-nutrients in Milk and Milk-based Food Products*. Elsevier Sci. Publ. Ltd.: 239–303.
- KÜHNE D., WIRTH F., WAGNER H. (1993): Jodbestimmung in jodierten Fleischerzeugnissen. *Fleischwirtsch.*, *73*: 175–178.
- LEE S. M., LEWIS J., BUSS D. H. (1994): Iodine in British foods and diets. *Brit. J. Nutr.*, *72*: 435–446.
- MAHESH D. L., DEOSTHALE Y. G., NARASINGA RAO B. S. (1992): A sensitive kinetic assay for the determination of iodine in foodstuffs. *Food Chem.*, *43*: 51–56.
- MITSUHASHI T., KANEDA Y. (1990): Gas chromatographic determination of total iodine in foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, *73*: 790–792.
- MOXON R. E. D., DIXON E. J. (1980): Semi-automatic method for the determination of total iodine in food. *Analyst*, *105*: 344–352.
- SANDELL E. B., KOLTHOFF I. M. (1937): Microdetermination of iodine by catalytic method. *Microchim. Acta*, *1*: 9–25.
- SERTL D., MALONE W. (1993): Liquid chromatographic method for determination of iodine in milk: Collaborative study. *J. AOAC Int.*, *76*: 711–719.
- VERMA K. K., JAIN A., VERMA, A. (1992): Determination of iodide by high-performance liquid chromatography after precolumn derivatization. *Anal. Chem.*, *64*: 1484–1489.
- WIECHEN A., KOCK B. (1984): Zur routinemässigen Bestimmung niedriger Iodkonzentrationen in Milch. *Fres. Z. Anal. Chem.*, *319*: 569–572.

Received July 29, 1998

Souhrn

FIEDLEROVÁ V. (1998): Spektrofotometrické stanovení jodu a jeho obsah a stabilita ve vybraných potravinářských surovinách a výrobcích. *Czech J. Food Sci.*, *16*: 163–167.

Je popsána spektrofotometrická metoda vhodná pro stanovení celkového jodu v potravinách, založená na Sandell-Kolthoffově reakci (katalytické působení I^- na reakci Ce^{4+} a As^{3+}), po předchozím alkalickém tavení za přítomnosti KOH, $ZnSO_4$ a $KClO_3$. Na základě hodnot opakovatelnosti, recovery a porovnání se standardními referenčními materiály je metoda vhodná pro mineralizáty s obsahem nejméně 2,5 ng I v 1 ml. Touto metodou byl stanoven obsah jodu v mléce, obilovinách, vejcích, mase, rybách a dalších potravinářských výrobcích. V další části práce jsme se zabývali sledováním stability jodu přidaného do některých potravinářských výrobků buď přímo ve formě jodičnanu draselného, nebo prostřednictvím soli s přísadkou této látky. Při skladování dvou výrobků sušené dětské mléčné výživy obohacených jodem nedošlo během 12 měsíců skladování za běžných podmínek (20 °C, baleno v inertní atmosféře) ke ztrátám tohoto faktoru. V pekárenských výrobcích jsme sledovali stabilitu jodu během pečení. Z výsledků sledování obsahu jodu v těstě a v hotovém výrobku pro 6 pokusných výrob s použitím jodované soli je patrná velmi dobrá stabilita tohoto faktoru. Retence se pohybovala v rozmezí 95,9–100,1 %. Použití jodované soli nepůsobilo technologické obtíže ani nemělo vliv na organoleptické vlastnosti hotových výrobků.

stanovení jodu; způsoby mineralizace; stabilita jodu; potraviny

Contact address:

Ing. Vlasta Fiedlerová, Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10-Hostivař, Česká republika, tel.: + 420 2 70 23 31, fax: + 420 2 70 19 83, e-mail: v.fiedlerova@vupp.cz

Kinetic Parameters of Modified Lysozyme*

Marija GOTTVALDOVÁ, Alexandra PROŠKOVÁ, Jiří KUČERA

Food Research Institute Prague, Prague, Czech Republic

Abstract

GOTTVALDOVÁ M., PROŠKOVÁ A., KUČERA J.: Kinetic parameters of modified lysozyme. Czech J. Food Sci., 16: 168–170.

Antimicrobial spectrum of lysozyme (EC 3.2.1.17) was modified by the way of hydrophobization. Lauryl- and palmitoyl-substituted lysozymes were compared with unmodified lysozyme in the action against gram-positive bacteria *Micrococcus luteus* and gram-negative bacteria *Pseudomonas putida* strain 7, *Ps. putida* strain 8, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, and *Escherichia coli*. The K_m and V_{max} values were determined in each case. While the K_m for *Micrococcus luteus* rises by hydrophobization, this constant decreased for all gram-negative bacteria with hydrophobization. V_{max} values decrease with hydrophobization for *M. luteus* and increase for gram-negative bacteria. No direct relationship was found between the length of hydrophobic chain and the activity of modified lysozyme against gram-negative bacteria. The results show that K_m is the factor more affected by hydrophobization.

lytic enzymes; lysozyme; kinetic parameters; hydrophobic substitution

The enzymes are frequently used for the food sanitation (e.g. Pellegrini et al., 1992). Most of the enzymes have bacteriostatic activity only (e.g. Liu et al., 1995), but some of them could act bactericidally too. Lactoperoxidase (Wit, 1995), for instance, is one of the enzymes having bactericidal activity. Lysozyme (EC 3.2.1.17) is the enzyme most frequently used in food sanitation. This enzyme is able to hydrolyse the cell membrane of sensitive bacteria solubilizing them by this way (Salton, 1952). This enzyme, first described by Fleming as early as in 1922 (Fleming, 1922), is not bactericidal, but bacteriostatic only.

The advantage of enzymatic sanitation of food is the fact that no foreign substances are introduced. Enzymes, like proteins, are a natural component of food and lytic enzyme activity could be destroyed whenever needed. The drawback of application of the most frequent enzyme – lysozyme, is its specificity which is limited mainly to gram-positive bacteria. The other enzymes, like lactoperoxidase for instance, introduce necessarily foreign compounds, as they need additional substances, hydrogen peroxide in the most cases.

Some experiments were described in which substrate specificity of lysozyme was changed by the way of substitution. The hydrophobization of lysozyme (using palmitic, myristic or stearic acids for instance) leads to the

broadening of antimicrobial spectra. The gram-negative bacteria are lysed by the hydrophobised lysozyme (Ibrahim et al., 1993).

Selected hydrophobically substituted derivatives of lysozyme were studied in this work with the aim to get information on the changes in their affinity for the substrate (bacterial cell wall) and maximum reaction velocity.

MATERIAL AND METHODS

Lysozyme (food grade) was purchased from PROMED factory, Prague, CZ. Lauric acid and palmitic acid N-hydroxysuccinimide esters were obtained from SIGMA.

Lysozyme activity was determined according the method of Prockop and Davidson (1964) based on a nephelometric determination of the lysis of *Micrococcus luteus* under standard conditions. One unit of lysozyme activity is the amount of the enzyme causing a decrease of optical density 0.001 at 546 nm.

Protein concentration was determined by the Lowry method in the modification by Hartree (1972).

The bacteria, *Pseudomonas putida* strain 7, *Ps. putida* strain 8, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, and *Escherichia coli*, were obtained from The Culture Collection RIFIS supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, grant No. E-97/01-3160.

*The work was supported by Grant Agency of the Czech Republic (grant No. 525/96/0523).

I. Kinetic parameters of lysozyme and modified lysozyme with different microorganisms as substrate

Microorganism	Lysozyme		Palmitoyl-lysozyme		Lauryl-lysozyme	
	K_m [$\mu\text{g/ml}$]	V_{\max} [$\text{u}/\mu\text{g}$]	K_m [$\mu\text{g/ml}$]	V_{\max} [$\text{u}/\mu\text{g}$]	K_m [$\mu\text{g/ml}$]	V_{\max} [$\text{u}/\mu\text{g}$]
<i>Micrococcus luteus</i>	0.09	26.3	0.23	12.5	0.11	23.2
<i>Pseudomonas putida</i> strain 7	1.32	2.2	0.16	4.5	1.44	1.86
<i>Ps. putida</i> strain 8	nd	nd	0.14	1.05	0.22	1.16
<i>Proteus vulgaris</i>	nd	nd	0.84	0.12	nd	nd
<i>Proteus mirabilis</i>	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<i>Serratia marcescens</i>	nd	nd	0.92	0.15	0.44	0.98
<i>Escherichia coli</i>	nd	nd	0.16	0.98	0.88	0.14

nd – not determined [the value of (OD_{546}) is too low to be used for estimation]

The bacteria were grown at 37 °C in meat-peptone medium for 16 hours. The cultivation broth was then diluted with 67mM phosphate buffer solution pH 6.3 to the appropriate final optical density at 546 nm and 0.1 ml of the solution of lysozyme or modified lysozyme (0.1 mg protein per ml of the same buffer) was then added. The rate of the decrease in optical density at 546 nm was measured after 30 s induction period. The initial rate was calculated for each bacterium. The optical density was recalculated to dry-matter content according to the calibration curve.

The hydrophobic substitution of lysozyme was carried out using N-hydroxysuccinimide esters of appropriate fatty acid according to H a q u e et al. (1982). Degree of substitution was 1 : 1 in each case. Degree of substitution is verified according to the same authors.

Scanning photometer Philips UV-VIS model PU 8730 was used for all photometric measurements.

RESULTS AND DISCUSSION

K_m of lysozyme and modified lysozyme for *Pseudomonas putida* strain 7, *Ps. putida* strain 8, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, and *Escherichia coli*, was determined using cell concentration in the range of 0.1 to 3.0 mg/ml dry-matter (DM) base and K_m and V_{\max} were calculated using double-reciprocal plot. The DM differs in individual cases as the growth rate of the microorganisms is not identical and the final concentration from which the suspension was prepared is not the same in all cases. The differences, nevertheless, do not mean that the results after kinetic calculation are not comparable. The calculated values of K_m and V_{\max} are summarised in Table I.

The results show no dependency of the modified lysozyme activity against gram-negative bacteria on the aliphatic acid chain length. The K_m and V_{\max} are different for individual microorganisms for the same substituent. K_m and V_{\max} are changed independently. The only conclusion

can be drawn that the change of the sensitivity of microorganism to modified lysozyme is more likely due to the K_m changes than to the changes of V_{\max} . The changes, nevertheless, are very individual and depend more on the relation of appropriate acyl-group to the cell-wall structure of individual microorganism than on the acyl-chain length.

References

- FLEMING A. (1922): Remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. Proc. Roy. Soc. London, Ser. B, 93: 306.
- HAQUE Z., MATOBA T., KITO M. (1982): Incorporation of fatty acid into food protein: palmitoyl soybean glycinin. J. Agr. Food. Chem., 30: 481–486.
- HARTREE E. F. (1972): Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. Anal. Biochem., 48: 422–427.
- IBRAHIM H., KOBAYASHI K., KATO A. (1993): Length of hydrocarbon chain and antimicrobial action to Gram-negative bacteria of fatty acylated lysozyme. J. Agr. Food Chem., 41: 1164–1168.
- LIU M. H., CHANG H. S., SHEEN H. S., HUNG L. T., SHIAU S. P. (1995): Preservative effect of egg white lysozyme on Chinese-style sausage. J. Chin. Soc. Anim. Sci., 24: 95–103.
- PELLEGRINI A., THOMAS U., FELLEBERG R. von, WILD P. (1992): Bactericidal activities of lysozyme and aprotinin against gram-negative and gram-positive bacteria related to their basic character. J. Appl. Bacteriol., 72: 180–187.
- PROCKOP D. J., DAVIDSON W. D. (1964): Urinary and serum lysozyme in patients with renal disease. New Engl. J. Med., 270: 269–274.
- SALTON M. R. J. (1952): Cell wall of *Micrococcus lysodeikticus* as substrate of lysozyme. Nature, 170: 746.
- WIT J. N. de (1995): Structure, functions and applications of lactoperoxidase in natural antimicrobial systems. In: Food Ingredients Europe. Conf. Proc.: 62–67 (ISBN 90-73220-15-7).

Received July 31, 1998

Souhrn

GOTTVALDOVÁ M., PROŠKOVÁ A., KUČERA J.: Kinetické parametry modifikovaného lysozymu. Czech J. Food Sci., 16: 168–170..

Antimikrobiální spektrum lysozymu jsme modifikovali hydrofobizací. Byly připraveny dva deriváty lysozymu: lauryl-lysozym a palmitoyl-lysozym, které byly srovnávány s nemodifikovaným lysozymem při působení proti grampozitivní bakterii *Micrococcus luteus* a gramnegativním bakteriím *Pseudomonas putida* 7, *Ps. putida* 8, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens* a *Escherichia coli*. Ve všech případech byly stanoveny hodnoty K_m a V_{max} . Zatímco hodnota K_m pro *Micrococcus luteus* hydrofobizací roste, tato hodnota se pro všechny gramnegativní bakterie snižuje. Hodnota V_{max} hydrofobizací vzrůstá u *M. luteus* a gramnegativních bakterií. Nebyl nalezen přímý vztah mezi délkou hydrofobního řetězce a aktivitou modifikovaného lysozymu proti gramnegativním bakteriím. Výsledky ukazují, že je to K_m hodnota, která je odpovědná za zvýšení aktivity modifikovaného lysozymu proti gramnegativním bakteriím.

lytické enzymy; lysozym; kinetické parametry; hydrofobní substituce

Contact address:

RNDr. Marija Gottvaldová, Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 37 Praha 10-Hostivař, Česká republika, tel.: + 420 2 70 23 31, fax: + 420 2 70 19 83, e-mail: j.kucera@vupp.cz

Partial Purification and Characterisation of Superoxid Dismutase from Carp Hepatopancreas*

Milena KMÍNKOVÁ, Jiří KUČERA

Food Research Institute Prague, Prague, Czech Republic

Abstract

KMÍNKOVÁ M., KUČERA J. (1998): **Partial purification and characterisation of superoxid dismutase from carp hepatopancreas.** Czech J. Food Sci., 16: 171-173.

Superoxid dismutase from carp hepatopancreas was purified using thermal precipitation of the contaminating proteins as a single purification step (except centrifugation and filtration). The enzyme was purified in this way by the factor of 2.27. The K_m of resulting superoxid dismutase was 1.429 mmol/l (30 °C, pH 7.9).

carp; hepatopancreas; superoxid dismutase; isolation; purification

The superoxid radical (O_2^-) is a highly reactive free radical produced by the one-electron reduction of oxygen. It is produced in all respiring cells (Hassan, 1984) by a number of biochemical reactions. Probably the most important source of superoxid radical is the electron transport chains of mitochondria and endoplasmic reticulum (Halliwell, Gutteridge, 1985).

Evidence also exists to suggest that superoxid radical may be involved in the mediation of ultraviolet radiation-induced cell damage (Pathak, Stratton, 1968).

Superoxid radical reaction with biological structure is one of the general mechanisms of tissue damage which occurs e.g. in ischemic reoxygenation, i.e. following myocardial infarction. Further, in the site of inflammation the macrophages release superoxid extracellularly. The same event takes place in acute pancreatitis, etc. (Slabý, Štípek, 1989).

Superoxid dismutase (SOD), a metalloenzyme, catalyses the dismutation of the superoxid free radical (McCord, Fridovich, 1969). It is found in virtually all oxygen-consuming organisms (McCord et al., 1971). Superoxid dismutase was originally described by Brewer (1967) as tetrazolium oxidase.

Superoxid dismutase is used in medicine under different trade names for the treatment of articular inflammatory (Chiatti, Zazzaro, 1985), rheumatoid arthritis (Camus et al., 1980), etc.

It is usually separated and purified by the five-step protocol described with Crapo et al., (1978). Immobilised

metal-ion affinity chromatography (IMAC) of human copper-zinc-superoxid dismutase was used for the purification of this enzyme too (Miyata-Amano et al., 1986). The same method was used for the purification of chicken erythrocyte Cu, Zn superoxid dismutase (Michalski, Prowse, 1991).

In this work, we report on the simple preparation of pre-purified carp hepatopancreatic superoxid dismutase using thermal precipitation of contaminating proteins. The method utilises relatively high thermostability of superoxid dismutase.

MATERIAL AND METHODS

Carp hepatopancreas was obtained from Lahovice Fishery, Czech Republic. Hepatopancreas was separated immediately after killing the fish and kept at -20 °C until used. Before the use, the hepatopancreas was thawed at 5 °C overnight.

Superoxid dismutase from bovine erythrocytes and bovine serum albumin were products of SIGMA Fine Chemicals, all other reagents were obtained from Lachema, Brno.

Superoxid dismutase activity was determined according to Marklund and Marklund (1974) using bovine erythrocyte SOD as standard.

Protein content was determined according to Lowry in the modification of Hartree (1972).

The UV-VIS photometer Philips, model PU8730, was used for photometric measurements.

*The study was supported by the Grant Agency of the Czech Republic, grant No. 509/95/06045.

I. Thermal stability and specific activity of carp hepatopancreatic superoxid dismutase in crude extract

Time [min]	Temperature [°C]					
	50		60		80	
	aActivity [u/ml]	specific activity [U/mg protein]	activity [u/ml]	specific activity [U/mg protein]	activity [u/ml]	specific activity [U/mg protein]
0	11.25	0.22	11.25	0.22	11.25	0.22
10	12.00	0.33	-	-	-	-
20	12.15	0.46	10.37	0.3	3.25	0.12
30	11.87	0.82	8.5	0.2	2.62	0.03
40	11.64	0.96	-	-	-	-
50	12.00	0.98	-	-	-	-
60	12.25	1.02	6.87	0.08	2.37	0.01

RESULTS AND DISCUSSION

50 g of carp hepatopancreas was homogenised in 75 ml of 10mM Tris-HCl buffer pH 7.9 containing 0.5 mM of dithiothreitol (DTT). Homogenate was stirred 30 min in the same buffer and solids were separated by centrifugation (13 000 g, 30 min at 5 °C). Cloudy supernatant was then filtered through cheese-cloth and kept 30 min in cold (5 °C) and centrifuged once again. Without the cooling step, the "fines" cannot be separated. Clear solution containing superoxid dismutase was then heated to 50, 60, and 80 °C for different time to determine thermostability of the enzyme and purification effect of thermal precipitation. The results are summarised in Table I. For the comparison, the same thermal precipitation was carried out using commercial bovine erythrocyte superoxid dismutase (Table II). As is seen from Tables I and II, both enzymes show high thermostability and, as a consequence, the thermoprecipitation can be used for their purification. The samples were taken and filtered before determination of SOD activity and protein concentration. The specific activity of carp hepatopancreatic superoxid dismutase rises during heating of the crude homogenate.

The thermal precipitation could be used for the rapid and simple purification of superoxid dismutase. We have

II. Thermal stability of bovine erythrocyte superoxid dismutase

Time [min]	Temperature [°C]		
	50	60	80
0	28.5	28.5	28.5
20	28.5	25.0	7.5
30	28.5	23.5	6.0
60	28.5	23.0	3.0

used the above results for the development of novel protocol for the prepurification of superoxid dismutase, which is efficient for the enzyme of carp hepatopancreas or bovine erythrocytes. It is believed to be equally efficient for the enzymes from other sources too. The results of the purification of carp hepatopancreatic SOD are summarised in Table III.

The K_m of the enzyme purified in this way was determined in the range of pyrogallol concentration 3 to 36 mM, temperature 30 °C and pH 7.9. The modification of the method of Marklund and Marklund (1974) was used for the K_m determination. The double reciprocal plot was applied for calculation using the least squares method. The K_m was found to be 1.429 mmol/l under these conditions.

III. Purification of carp hepatopancreatic superoxid dismutase with thermal precipitation

Step	Volume [ml]	Protein [mg/ml]	Total protein [mg]	SOD activity [u/ml]	Total SOD [u]	Specific activity [u/mg protein]	Purification factor
Extract	130	35.5	4622	16	2080	0.45	1
1 st centrifugation	108	31.25	3375	15	1620	0.48	1.07
Filtrate	100	22.72	2272	12.5	1250	0.55	1.22
2 nd centrifugation	92	18.15	1670	11.25	1035	0.62	1.37
Heating (50 °C, 60 min)	85	12.00	1020	12.25	1041	1.02	2.27

References

- BREWER G. J. (1967): A chromatin region of tetrazolium stained starch gels: Inherited electrophoretic variation. *Am. J. Hum. Genet.*, 19: 674–680.
- CAMUS J. P., EMERIT I., MICHELSON A. M., PRIER A., KOEGER A. C., MERLET C. (1980): Superoxid dismutase and rheumatoid arthritis. Study of a series of 6 cases. *Rev. Rhum. Mal. Osteoartic*, 47: 489–492.
- CRAPO J. D., McCORD J. M., FRIDOVICH I. (1978): Preparation and assay of superoxid dismutase. *Methods Enzymol.*, 53: 383–393.
- HALLIWELL B., GUTTERIDGE J. M. C. (Eds) (1985): *Free Radicals in Biology and Medicine*. 1st ed. New York, Oxford Univ. Press: 84–136.
- HARTREE F. (1972): Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Anal. Biochem.*, 48: 422–427.
- HASSAN H. M. (1984): Superoxid dismutase: An antioxidant defense enzyme. In: ARMSTRONG D., SOHAR R. S., CUTLER R. G., SLOTER T. F. (Eds): *Free Radicals in Molecular Biology, Aging and Disease*. New York, Raven Press: 77–85.
- CHIATTI R., ZAZZARO B. (1985): The use of superoxid dismutase in articular inflammatory pathology. *Clin. Ter.*, 114: 505–508.
- MARKLUND S., MARKLUND G. (1974): Involvement of superoxid anion radical in the autooxidation of pyrogallol and convenient assay for superoxid dismutase. *Eur. J. Biochem.*, 47: 469–474.
- McCORD J. M., FRIDOVICH I. (1969): Superoxid dismutase: An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, 244: 6049–6055.
- McCORD J. M., KEELE B. B. Jr., FRIDOVICH I. (1971): Enzyme-based theory of obligate anaerobiosis: Physiological function of superoxid dismutase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 68: 1024–1027.
- MICHALSKI W. P., PROWSE S. J. (1991): Cu, Zn superoxid dismutase from chicken erythrocytes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 100B: 371–375.
- MIYATA-ASANO M., IKEDA H., SEKIGUCHI S. (1986): Purification of copper-zinc-superoxid dismutase from human erythrocytes by copper-chelate affinity chromatography. *J. Chromatogr.*, 370: 501–507.
- PATHAK M. A., STRATTON R. (1968): Free radicals in human skin before and after exposure to light. *Arch. Biochem. Biophys.*, 123: 468–476.
- SLABÝ J., ŠTÍPEK S. (1989): Úloha volných radikálů v patogenezi některých interních onemocnění. *Sbor. lék.*, 91 (2–3): 45–51.

Received July 31, 1998

Souhrn

KMÍNKOVÁ M., KUČERA J. (1998): **Parciální purifikace a charakterizace superoxid dismutasy z hepatopankreasu kapra.** *Czech J. Food Sci.*, 16: 171–173.

Superoxid dismutasa hepatopankreatu kapra byla 2,27krát purifikována termální precipitací kontaminujících bílkovin jako jediným purifikačním stupněm (kromě centrifugace a filtrace). Enzym byl charakterizován stanovením K_m (1,429 mM/l, 30 °C, pH 7,9).

kapr; hepatopankreas; superoxid dismutasa; izolace; purifikace

Contact address:

Ing. Milena Kmínková, Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10-Hostivař, Česká republika, tel: + 420 2 70 58 68, fax: + 420 2 70 19 83, e-mail: j.kucera@vupp.cz

ŽIVOTNÍ VÝROČÍ

Sedmdesátiny Ing. Miloslava Adama, CSc.

V letošním roce se dožívá významného životního jubilea – 70 let – Ing. Miloslav Adam, CSc., dlouholetý pracovník potravinářského výzkumu a člen redakční rady tohoto časopisu.

Ing. Adam se narodil 16. 4. 1928 v Brňanech u Litoměřic. Studoval na strojní fakultě ČVUT v Praze, kterou absolvoval v roce 1951. Po kratší praxi ve strojírenských závodech nastoupil do Výzkumného ústavu pro mechanizaci a ekonomiku potravinářského průmyslu, který byl později reorganizován a změněn na Výzkumný ústav potravinářského průmyslu. V letech 1953–1957 absolvoval vědeckou aspiranturu na Strojní fakultě ČVUT jako vůbec jeden z prvních aspirantů této školy. Před vědeckou radou strojní fakulty obhájil s velkým úspěchem v roce 1958 svou disertační práci. Týkala se problematiky, které se pak věnoval další léta – teoretických základů potravinářského inženýrství.

Jako erudovaný a pro zvolený obor zapálený vědecký a později vedoucí pracovník pracoval ve Výzkumném ústavu potravinářského průmyslu téměř 40 let. V roce 1965 byl pověřen vedením strojního odboru ústavu, který byl později přejmenován, v souladu s cíleně prosazovaným odborným zaměřením výzkumné činnosti, na odbor potravinářského inženýrství. Postupně vybudoval pracoviště s velmi dobrou profesní i technickou úrovní, orientované na sítěžení a perspektivní oblasti potravinářského inženýrství. Přestože tento odbor při pozdější reorganizaci a přemístění ústavu zanikl a řada jeho pracovníků odešla do soukromé sféry, většina z nich si odnesla mnoho cenných poznatků a zkušeností, díky moudrému a cílevědomému vedení Ing. Adama. VÚPP se ovšem problematikou potravinářského inženýrství zabývá stále.

Vědecko-výzkumná a později i řídicí práce Ing. Adama směřovala jak do aplikovaného, tak do základního výzkumu. Zabýval se vybranými úseky manipulace s materiálem, výrobními linkami, zpracováním kolagenu, ale i teorií uzení a sušení, teoretickými základy tepelných zpracovatelských procesů, energetikou. Byl iniciátorem výzkumu v oblasti fyzikálních vlastností potravin a vytváření databanky těchto hodnot. Tato aktivita v mezinárodním měřítku dodnes pokračuje. Inicioval také první výzkumné práce zaměřené na vztah techniky a hygieny zpracování potravin.

Ing. Adam je autorem mnoha vědeckých a odborných prací, z nichž řada byla publikována v zahraničí. Bylo mu uznáno 14 vynálezů. Některé z jeho prací jsou dodnes citovány tuzemskými i zahraničními autory. Přednášel v řadě států, účastnil se několika mezinárodních projektů. Úzkou mezinárodní spolupráci na konkrétním problému prosazoval i přes to, že v té době mu přinášela spíše problémy než uznání. Byl garantem řady vědeckých a odborných setkání, vždy s účastí některého z předních světových odborníků.

Ing. Adam úzce spolupracoval i s řadou dalších pracovišť – s jinými výzkumnými ústavy, s výrobními závody a vysokými školami. Řadu let velmi aktivně pracoval v ČSAZ – v komisi pro potravinářskou techniku, pro zemědělskou techniku, v odboru výživy, ve vydavatelské radě a v redakčních radách časopisů Zemědělská technika a Potravinářské vědy. Pravidelná zasedání komise potravinářské techniky, které mnoho let předsedal, byly vyhledávanou příležitostí pro setkávání předních odborníků z oblasti potravinářské techniky, a to jak ze sféry výroby, tak z výzkumu i škol.

V roce 1990 odešel Ing. Adam do důchodu a odborné aktivity se prakticky vzdal, aby se věnoval činnostem, na které mu dříve nezbyval čas – své rodině, vnukům, knihám, přírodě. Přejeme mu k tomu hodně zdraví a radosti ze života.

Redakční rada časopisu a kolegové z VÚPP

Aspartic Acid Proteinases of Carp (*Cyprinus carpio*) Hepatopancreas and Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) Stomach*

Zdenka KUČEROVÁ, Jiří KUČERA¹

Institute of Pathological Physiology, 1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague;

¹*Research Institute Prague, Prague, Czech Republic*

Abstract

KUČEROVÁ Z., KUČERA J. (1998): Aspartic acid proteinases of carp (*Cyprinus carpio*) hepatopancreas and rainbow trout (*Salmo gairdneri*) stomach. Czech J. Food Sci., 16: 175-178.

Aspartic acid proteinases were isolated from hepatopancreas of carp (*Cyprinus carpio*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*) stomach. The properties of both enzymes were compared with human and other mammalian pepsins and gastricsins. pH optima were found to be 2.4 and 5.0 for proteinase of rainbow trout stomach and carp hepatopancreas, respectively. In rainbow trout stomach the minor protease is present with the pH optimum similar to that of carp hepatopancreas. Gastric as well as hepatopancreatic enzymes are similar to mammalian gastricsin (pepsin C), then to mammalian pepsins (pepsin A) according to hydrolysis of specific synthetic substrates. Carp hepatopancreatic acid proteinase seems to be cathepsin D - like enzyme according to the pH optimum found. Hepatopancreatic enzyme is more stable during storage compared with the stomach one, however the stability of both enzymes is low. Hepatopancreatic enzyme is slightly stabilised by increasing ionic strength. Both enzymes are inhibited with NaCl concentration lower or higher than 0.2 M.

fish enzymes; carp; cathepsin D; gastricsin; pepsin; trout

Aspartic acid proteinases are broadly distributed in gastric mucosa, muscle and viscera of reptiles, amphibians and fish, as well as mammals (Giraud, Yeomans, 1982; Yamashita, Konagaya, 1990). Aspartic acid proteinases of gastric mucosa are involved in food digestion, but those of muscle and viscera are believed to be involved in intracellular metabolism and *post mortem* changes of meat. Indices exist that even the latter can be involved in the digestion of protein (Yamashita, Konagaya, 1990).

Gastric aspartic acid proteinases are usually divided into three groups: (i) pepsin (pepsin A); (ii) gastricsin (pepsin C) and (iii) SMP (slowly moving proteinase) according to its electrophoretic mobility (Samloff, 1969).

The presence and mutual concentrations of pepsin and gastricsin vary according to vertebrate species, genetic variations and, at least in human, with various gastric diseases as well (Kučerová et al., 1993). Three pepsins and two gastricsin isoenzymes, for instance, are present in human stomach mucosa (Evers et al., 1989; Pals et al., 1989), only pepsin is present in pig (Foltmann, 1988) and only gastricsin in rat (Ichihara et al., 1986).

Synthetic dipeptide substrates were used to distinguish between pepsin and gastricsin (Kučerová et al., 1985).

AcPhe-Tyr(I₂) is used as specific substrate for pepsins, and For-Tyr-Phe and For-Tyr-Tyr as specific substrate for gastricsins.

The character of fish stomach aspartic acid proteinases was studied from this point of view only scarcely (see e.g. Sanchez-Chiang, Ponce, 1981). No muscle or visceral aspartic acid proteinases (cathepsins D) were compared with pepsin or gastricsin according to the hydrolysis of above specific substrates.

The present paper deals with the separation of gastric aspartic acid proteinases of rainbow trout and hepatopancreatic ones of carp. The properties of these enzymes were compared with human and some other mammalian enzymes.

MATERIAL AND METHODS

Carp and rainbow trout caught during spring 1995 in Southern Bohemia were supplied by the Research Institute of Fishery and Hydrobiology, Vodňany, Czech Republic. Both types of fish were frozen immediately after killing and stored at -50 °C until used.

Synthetic substrates, AcPhe-Tyr(I₂), For-Tyr-Phe and For-Tyr-Tyr, were synthesised by Dr. Kasáfirek, Research Institute of Pharmacy and Biochemistry, Prague.

*This study was supported by the Grant Agency of the Czech Republic, Grant No. 509/95/06045.

Bead DEAE-cellulose (Iontosorb DEAE) was purchased from Iontosorb, Ústí n. L., CR.

All other chemicals were products of Lachema, Brno, quality reagent grade.

The rate of hydrolysis of the mentioned synthetic substrates was determined as follows: The extracts of carp hepatopancreas or trout stomach (prepared by the way of homogenisation of 1 g of material in 3 ml of water for 3 min) were centrifuged and clear supernatants were activated with 1M HCl. The samples were diluted with 0.06M HCl to appropriate activity. 0.5 ml of sample was incubated with 0.15 ml of 0.002M solution of the appropriate substrate for 4 or 6 hours at 37 °C. Free tyrosine or phenylalanine was then determined by the method of Rosen (1957).

The inhibition of proteinases with pepstatin was determined by the measurement of enzyme activities in the presence and absence of pepstatin.

Activity against haemoglobin as substrate was determined according to Anson and Mirsky (1932).

Protein concentration was determined by the method of Lowry et al. (1951).

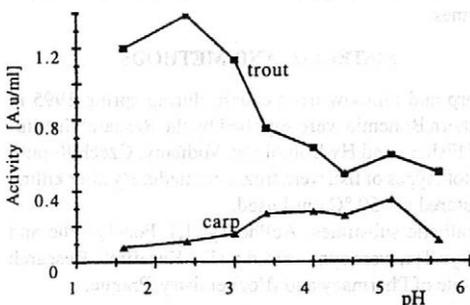
Extracts were prepared according to Kučerová et al. (1987).

The saccharides were determined according to Weimer and Moskin (1958).

Chromatography on bead DEAE-cellulose was carried out as follows: 40 ml of extract in 0.05M phosphate buffer pH 7.0 was applied into the column (3 × 50 cm) of bead DEAE-cellulose equilibrated with the same buffer. The column was then washed with equilibrating buffer to remove all unadsorbed material. Then the linear gradient of pH and ionic strength were applied from the starting conditions to 0.4M phosphate pH 5.4 (125 : 125 ml). Finally, the column was washed with 100 ml of 0.5M NaCl in 0.4M phosphate pH 5.4.

RESULTS

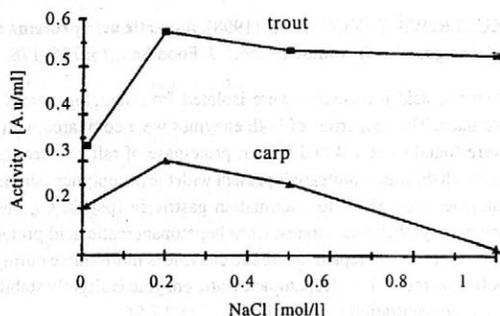
The dependence of enzyme activity on pH was measured using DEAE-cellulose prepurified extracts. As shown in Fig. 1, trout gastric proteinase has pH optimum typical of gastric acid proteinases (pepsins, gastricsins). Except



1. pH optimum of rainbow trout gastric acid proteinase and carp hepatopancreas acid proteinase (hemoglobin as substrate)

the main optimum at pH 2.4, however, the second, lower, pH optimum exists at pH 5.0. This secondary pH optimum coincides with the pH optimum of carp hepatopancreatic proteinase (5.0).

The dependence of proteolytic activity on salt concentration (NaCl in mol/l) was measured in the concentration range of 0.001 to 1 M. The activities of both enzymes (trout gastric and carp hepatopancreatic proteinases) decrease rapidly with decreasing ionic strength below 0.2 M. At ionic strength higher than 0.2 M the enzyme activity decreases as well, but very slowly (Fig. 2). The optimum salt concentration was proved to be 0.2 M similarly like for the similar enzymes (see for instance Sanchez-Chiang, Ponce, 1981).



2. The dependence of acid proteinase of rainbow trout stomach and carp hepatopancreas on ionic strength (hemoglobin as substrate)

Both enzymes were found to be strongly inhibited with pepstatin, which means that both enzymes are aspartic acid proteinases. Substrates specific for gastricsin, For-Tyr-Phe and For-Tyr-Tyr, were effectively hydrolysed by both enzymes. The substrate specific for pepsin (AcPhe-Tyr(₁)), on the other hand, was not hydrolysed by any of the enzymes tested (Table I). Then, as a consequence, both enzymes are gastricsin-like proteinases.

I. Hydrolysis of pepsin and gastricsin specific substrates with acid proteinase of rainbow trout stomach and carp hepatopancreatic acid proteinase

Substrate	Specific for	Activity [A.j./ml]	
		carp	trout
For-Tyr-Phe	gastrics	0.17	0.32
For-Tyr-Tyr	gastricsin	0.06	0.08
Ac-Phe-Tyr-(₁)	pepsin	0	0

The storage stability of both enzymes is relatively low, as shown in Fig. 3. The activity of carp hepatopancreatic enzyme decreases during 14 days to approximately one half of the initial activity, while trout gastric enzyme decreases during 14 days as much as one order in magnitude.

II. Comparison of pH optima of various acid proteinases

Acid proteinase	Source	pH optimum	References
Gastricsin	rainbow trout	2.4	this paper
Hepatopancreatic	carp	5	this paper
Cathepsin D	carp	3.8	Brun, Wojtowicz (1987)
Cathepsin D	Squid digest gland	3.9	Gildberg (1987)
Cathepsin D	bovine spleen	4.5	Dorer et al. (1978)
Gastricsin	human	3	Richmond et al. (1958)
Pepsin II	Atlantic cod	2	Gildberg et al. (1990)
Pepsin I	Atlantic cod	3.5	Gildberg et al. (1990)
Pepsin	human	1.9	Richmond et al. (1958)
Pepsin	pig	1.9	Bjelland et al. (1988)

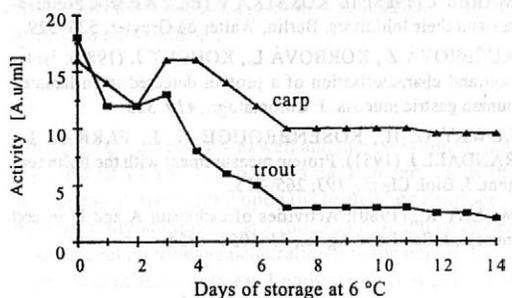
DISCUSSION

Both acid proteinases, that of carp hepatopancreas as well as that of rainbow-trout stomach, were found to be completely inhibited with pepstatin. This fact means that both these enzymes are aspartic acid proteinases. As shown in Fig. 1, the pH optimum of rainbow trout gastric proteinase was determined to be in the range similar to other fish brands (Table II), which is somewhat higher compared with mammalian pepsins. Carp hepatopancreatic enzyme, on the other hand, has its pH optimum even higher, which is comparable with pH optima of some mammalian cathepsins (Table II for comparison). Moreover, carp is typical stomach-less fish. As such, it has neutral or mild alkaline pH of its digestive tract. Hepatopancreas and spleen in fish were described to contain a large amount of cathepsin D (Mc Lay, 1980). The pH optimum of cathepsins D from fish and invertebrates is usually in the pH range 2.8–4.0 (Sakai-Suzuki et al., 1983; Sanchez-Chiang, Ponce, 1986; Gildberg, 1987; Mc Lay, 1980), which correlates with the data described for mammalian cathepsin D (Barrett, 1977). Carp hepatopancreatic acid proteinase has its pH optimum even higher compared with this range (Fig. 1). Trout gastric proteinase has pH optimum in the range usual for fish pepsins, but an additional low secondary optimum is seen at the pH value of 5.0. This secondary pH optimum of trout gastric proteinase coincides with that of carp hepatic proteinase.

Both enzymes hydrolyse synthetic dipeptides. Cathepsin D, on the other hand, is known to be unable to hydrolyse such small peptides (Manokidan, Ikeda, 1969). As shown in Table I, both enzymes hydrolyse synthetic dipeptide substrate specific for gastricsin, and do not hydrolyse specific substrate for pepsin.

Both enzymes have an optimal concentration of NaCl (Fig. 2) 0.2 M. This optimal salt concentration seems to be similar to that of pepsins of marine fish (Sanchez-Chiang, Ponce, 1981) showing in this way the close similarity between marine and freshwater fish.

Trout gastric acid proteinase, as well as carp hepatopancreatic acid protease, has low storage stability. Carp enzyme is more stable compared with the trout one, as shown in Fig. 3.



3. Shelf-life stability of acid proteinases of rainbow trout stomach and carp hepatopancreas

From the results discussed above the carp hepatopancreatic acid proteinase seems to be cathepsin D-like enzyme, and trout gastric proteinase gastricsin-like enzyme.

References

- ANSON M. L., MIRSKY A. E. (1932): The estimation of pepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* 16, 59–63.
- BARRETT A. A. (1977): Cathepsin D and other Carboxyl Proteinases. In: BARRETT A. A. (Ed.): *Proteinases in Mammalian Cells and Tissues*. Amsterdam, North-Holland: 209–248.
- DORER F. E., LENTY K. E., KAHN J. R., LEVINE H., STEGGS L. T. (1978): A comparison of the substrate specificities of cathepsin D and pseudorenin. *J. Biol. Chem.*, 253: 3140–3142.
- EVERS M. P. J., ZELLE B., BEBELMAN P., BEUSECHEM V. van, KRAAKMAN I., HOFFER M. J. V., PRONK J. C., MAGER W. H., PLANTA R. J., ERIKSSON A. W., FRANTS R. R. (1989): Nucleotide sequence comparison of five human pepsinogen A (PGA) genes: evolution of the PGA multiple family. *Genomics*, 4: 232–239.

- FOLTMANN B. (1988): Structure and function of propeptides in zymogens for aspartic proteinases. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler's*, 369: 311–314.
- GILDBERG A. (1987): Purification and characterisation of cathepsin D from the digestive gland of the pelagic squid *Todarodes sagittatus*. *J. Sci. Food Agric.*, 39: 85–94.
- GILDBERG A., OLSEN R. L., BJARNASON J. B. (1990): Catalytic properties and chemical composition of pepsinogen from Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 96B: 323–330.
- GIRAUD A. S., YEOMANS N. D. (1982): Comparative distribution of pepsinogen in chordate gastric mucosa from representatives of five classes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 72: 145–147.
- ICHIHARA Y., SOGAWA K., MOROHASHI K., FUJII-KURIYAMA Y., TAKAHASHI K. (1986): Nucleotide sequence of a nearly full-length cDNA coding for pepsinogen of rat gastric mucosa. *Eur. J. Biochem.*, 161: 7–12.
- KUČEROVÁ Z., KORBOVÁ L., KOHOUT J., PEŠKOVÁ M., ŠVÁB J. (1993): Pepsinogen polymorphism in human gastric mucosa in relation to gastric diseases. *Sbor. lék.*, 94: 163–168.
- KUČEROVÁ Z., KORBOVÁ L., ČÍŽKOVÁ J., KOHOUT J., MAREK J. (1985): In: KOSATKA V. (Ed.): Aspartic Proteinases and their Inhibitors. Berlin, Walter de Gruyter: 525–529.
- KUČEROVÁ Z., KORBOVÁ L., KOHOUT J. (1987): Isolation and characterisation of a protein detected in inflamed human gastric mucosa. *J. Chromatogr.*, 419: 323.
- LOWRY O. H., ROSENBOURGH N. J., FARR A. L., RANDALL J. (1951): Protein measurement with the Folin reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265–275.
- Mc LAY R. (1980): Activities of cathepsin A and D in cod muscle. *J. Sci. Food Agric.*, 31: 1050–1054.
- MOKINODAN Y., IKEDA S. (1969): Studies of fish muscle protease. III. Purification and properties of a proteinase active in the acid range. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 35: 758–766.
- PALS G., AZUMA T., MOHANDAS T. K., BELL G. I., BACON J., SAMPLOFF I. M., WALZ D. A., BARR P. J., TAGGART T. (1989): Human pepsinogen C (progastricsin) polymorphism: evidence for single locus located at 6p21.1-pter. *Genomics*, 4: 137–145.
- RICHMOND V., TANG J., WOLF S., TRUCCO R. E., CAPUTO R. (1958): Chromatographic isolation of gastricsin, the proteolytic enzyme from gastric juice with pH optimum 3.2. *Biochim. Biophys. Acta*, 29: 453.
- ROSEN H. (1957): A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. *Arch. Biochem. Biophys.*, 67: 10–15.
- SAKAI-SUZUKI J., SAKAGUCHI Y., HOSHINO S., MATSUMOTO J. J. (1983): Separation of cathepsin D-like proteinase of squid mantle muscle. *Comp. Biochem. Biophys.*, 85B: 81–87.
- SAMLOFF I. M. (1969): Slow moving protease and the seven pepsinogens. Electrophoretic demonstration of the existence of eight proteolytic fractions in human gastric mucosa. *Gastroenterology*, 57: 659–669.
- SANCHEZ-CHIANG L., PONCE O. (1981): Salt activation of fish gastricsins. IRCS Medical Science: Alimentary System, Biochemistry, Environmental Biology and Medicine, Experimental Animals, 9: 1094.
- WEIMER H. E., MOSKIN J. R. (1958): Serum glycoprotein concentration in experimental tuberculosis in guinea pigs. *Amer. Rev. Tuberc.*, 68: 594–599.
- YAMASHITA M., KONAGAYA S. (1990): High activities of cathepsin B, D, and L in the white muscle of chum salmon in spawning migration. *Comp. Biochem. Physiol.*, 95B: 149–152.

Received July 31, 1998

Souhrn

KUČEROVÁ Z., KUČERA J. (1998): **Aspartátové proteasy z hepatopankreatu kapra (*Cyprinus carpio*) a žaludku pstruha duhového (*Salmo gairdneri*).** *Czech J. Food Sci.*, 16: 175–178.

Aspartátové proteasy byly izolovány z hepatopankreatu kapra (*Cyprinus carpio*) a žaludku pstruha duhového (*Salmo gairdneri*). Vlastnosti těchto enzymů byly srovnávány s lidským a dalšími savčími pepsiny a gastricsiny. Optimální pH pro proteasy žaludku pstruha bylo 2,4 a pro proteasy hepatopankreatu kapra 5,0. V žaludku pstruha byly prokázány v nízké koncentraci i proteasy podobné proteasám hepatopankreatu kapra. Podle hydrolyzy specifických substrátů jsou obě proteasy spíše podobné gastricsinu (pepsinu C) než pepsinu savců (pepsinu A). Hepatopankreatický enzym je termostabilnější než enzym žaludku pstruha, ale stabilita je v obou případech poměrně nízká. Hepatopankreatický enzym je částečně stabilizován vyšší iontovou silou. Oba enzymy jsou inhibovány NaCl v koncentraci vyšší nebo nižší než 0,2 M.

enzymy ryb; kapr; pstruh; kathepsin D; pepsin; gastricsin

Contact address:

Ing. Jiří Kučera, CSc., Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10-Hostivař, Česká republika, tel.: + 420 2 70 58 68, fax: + 420 2 70 19 83, e-mail: j.kucera@vupp.cz

Temperature Distribution in a Layer of Food Heated by Microwaves*

Jiřina HOUŠOVÁ, Karel HOKE, Petr TOPINKA

Food Research Institute Prague, Prague, Czech Republic

HOUŠOVÁ J., HOKE K., TOPINKA P. (1998): Temperature distribution in a layer of food heated by microwaves. Czech J. Food Sci., 16: 179–188.

By using the energy equation, Lambert's Law and finite difference method, the relatively simple programme for prediction of vertical temperature distribution inside the layered slab heated by microwaves was developed. The 1-D model described in this article was tested under various process conditions and compared with results of experiments to evaluate its performance and the exactness of prediction. Relative good agreement was found out by comparison of prediction and results of experiments in the cases of mashed potatoes, tomato and cream sauces, but some differences both in the shape of temperature profiles and in heating rate, were found out in the case of the dumpling heating. The possible reasons are discussed. One of them is the value of physical parameters of process, namely reliability of dielectric properties used for calculations. In all tested cases, the response of predicted temperature distribution in a layer of material to a change in process parameters was considered as real. Validity of prediction is very much influenced by values of input parameters used for calculation. Sensitivity analysis has shown that namely the value of power flux and some physical properties of heated material very influence on the prediction.

microwave heating; mathematical model; temperature distribution

In recent years microwave heating of food has become popular, as it is a quick, simple and convenient method of heating. Microwaves are used mostly for reheating of pre-cooked foods before their consumption. Different types of food products designed specifically for use in microwave ovens are available on the market now as a response of food producers to consumers' demand for convenience and microwave oven popularity.

Successful results with microwaveable food products can be achieved only when the necessary attention has been paid to the specific interaction of microwaves with individual foods. Uneven heating as a known problem of microwave heating in food applications is the main consequence of insufficient attention to the microwaveable food product's design.

Design of food products for microwave heating requires experience with microwave heating and many experiments. It can be facilitated with the aid of modelling techniques. Mathematical models offer better understanding of microwave heating process and can help to predict – with some accuracy – the thermal behaviour of food during its heating.

Different simple or more complex models have been developed until now for different food microwave heating applications.

Generally, two approaches for microwave heating process modelling are used. The first is based on electromag-

netic field equations of Maxwell and their solving, second on Lambert's Law. According to the Lambert's Law the microwave power falling upon the heated body surface is exponentially attenuated as a function of distance of one dimensional microwave penetration into the material.

Because of its simplicity, Lambert's Law was used in many models to predict temperature distribution in heated food of simple geometry – slab, cylinder, sphere (Ohlsson, Bengtson, 1971; Kirk, Holmes, 1975; Nykvist, Decareau, 1976; Datta et al., 1992; Tong, Lund, 1993; Houšová et al., 1996; Renen et al., 1996). However, Lambert's Law is only valid for the case when the heated body can be regarded as infinitely thick, which does not usually hold for every food application. For exact description of microwave heating process Maxwell equations must be applied, but specialised simulation packages are often needed in this case and numerical computation is very time consuming. First models of microwave heating based on Maxwell equation solution are from the nineties (Ayappa et al., 1991; Ohlsson, Risman, 1993; Chen et al., 1993; Lin et al., 1995).

Finite difference or finite element method is used for differential equation solutions in both approaches together with various simplification and assumptions in process description according to the individual case of heating.

*The work was supported by international project EU PECO CIPA-CT93-0240 and by the National Agency for Agricultural Research of the Czech Republic No. EP 096 098 6629.

An relatively simple 1-D model for prediction of vertical temperature profile in a slab (layer of food) heated by microwaves is described in this article. The model has been developed as a tool for facilitation of a design of microwaveable ready meals, which are packed and heated mostly in flat trays. The same approach has been used in the work as in our previous 2-D model for prediction of temperature distribution in a heated cylindrical food (H o u š o v á et al., 1996, 1997).

Theoretical approach

Model description

The model describes the dissipation of electromagnetic waves' energy during their transmission through the slab (infinite layer of material) and the conversion of this energy in heat. Only perpendicular incidence of waves to both faces of slab (upper, bottom) and multiple passage of waves through the slab are supposed. The slab can be regarded as a system consisting of one or more internal sub-layers. Different thickness and different properties of sub-layers are possibly supposed. The value of power flux [W/m^2] is used in the model as an input parameter (parameter of microwave oven system) for calculation and its constant value for the whole upper or bottom slab surface is supposed.

The Fourier heat transfer equation with internal heat source has been applied to process description [1]:

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

where: ρ – density [kg/m^3]
 c_p – specific heat capacity [$\text{J}/\text{kg}\cdot\text{K}$]
 λ – thermal conductivity of heated material [$\text{W}/\text{m}\cdot\text{K}$]
 T – temperature [$^{\circ}\text{C}$]
 t – time [s]
 Q – internal volumetric heat source [W/m^3]

Internal heat generation term Q expresses volumetric heating rate based on the level of power dissipation in successive shell/layer volume.

Lambert's Law [2] has been used to express power dissipated in each individual layer of slab (P_x) according to the distance of layer from slab surface (x) and dielectric properties of heated material. Depth of penetration D_p is used in this model as a parameter of dielectric properties:

$$P_x = P_0 \cdot e^{-\frac{x}{D_p}} \quad [2]$$

where: P_0 – value of power on the slab surface [W]
 P_x – value of power at x distance from surface [W]
 D_p – depth of microwave penetration [m]

Dependency of D_p on dielectric constant and dielectric loss factor of material is described by equation [3]:

$$D_p = \frac{\lambda_0}{4\pi} \sqrt{\frac{2}{\epsilon'' \left[\sqrt{1 + \left(\frac{\epsilon''}{\epsilon'}\right)^2} \right] - 1}} \quad [3]$$

where: λ_0 – a wavelength of microwaves in a free space (0.122 m)

ϵ' – relative dielectric constant [1]

ϵ'' – relative dielectric loss factor [1]

Initial condition

Uniform initial temperature distribution in a food sample is considered

$$T(x) = T_0 \quad \text{at } t = 0$$

Boundary condition

Heat exchange between surface of slab and surrounding air in the oven cavity by convection is assumed:

$$\lambda \cdot \frac{\partial T}{\partial x} = h (T_a - T)$$

where: h – surface heat transfer coefficient – SHTC [$\text{W}/\text{m}^2\cdot\text{K}$]

T_a – temperature of surrounding air [$^{\circ}\text{C}$]

λ – thermal conductivity of surrounding air [$\text{W}/\text{m}\cdot\text{K}$]

x – distance [m]

SHTC and T_a are considered as constants during heating, different values for the upper and bottom face of slab surface are possible.

Various assumptions have been made at the model design, such as:

- thickness of slab is constant during heating
- internal mass transport during heating is neglected
- evaporation of moisture from heated material occurs at the temperature of 100°C and is considered only in heat balance
- physical properties of the material are considered as a function of temperature (polynomial substitution of third power)
- multiple transmission of microwaves through the slab to the minor value of power (0.1%) is considered
- internal reflection of waves on interfaces of slab sub-layers is neglected
- power dissipated in the slab during multiple transmission of waves can be determined out by the calorimetric experiments

Calculation

Finite difference method with constant mesh distance and explicit substitution was used for the numerical solution of equations. A scheme for calculation is given in Fig. 1. Input process parameters for model calculations are in Table I.

Using in this work developed programme for calculation, the actual temperature in five arbitrary selected points

I. Input process parameters for model calculation

Parameter	Unit	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5	Test 6
Time of calculation	[s]	480	480	480	180	120	180
Time of delay	[s]	0	0	0	0	0	0
Time step for calculation	[s]	2	2	2	2	2	2
Time for 1. Profile	[s]	60	60	60	30	30	30
Time for 2. Profile	[s]	120	120	120	60	60	60
Time for 3. Profile	[s]	240	240	240	90	90	90
Time for 4. Profile	[s]	360	360	360	120	120	120
Time for 5. Profile	[s]	480	480	480	150		150
Power flux – upper	[W.m ⁻²]	8500	17000	8500	22000	22000	22000
Power flux – bottom	[W.m ⁻²]	8500	0	8500	0	0	0
Losing power	[1]	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
Initial temperature	[°C]	10	10	10	10	10	10
Ambient air temperature – upper	[°C]	30	30	30	30	30	30
Ambient air temperature – bottom	[°C]	30	30	30	30	30	30
Heat transfer coefficient – upper	[W.m ⁻² .K ⁻¹]	20	20	20	10	10	10
Heat transfer coefficient – bottom	[W.m ⁻² .K ⁻¹]	20	20	20	60	30	60
Number of layers	[1]	2	2	2	2	2	2
Layer 1							
Layer height	[m]	0.02	0.02	0.02	0.015	0.015	0.01
Thermal conductivity	[J.m ⁻¹ .K ⁻¹]	0.4	0.4	0.4	0.6	0.59	0.6
Density	[kg.m ⁻³]	1035	1035	1035	1035	1039	1035
Specific thermal capacity	[J.kg ⁻¹ .K ⁻¹]	3500	3 500	3 500	3800	3860	3800
Penetration depth	[m]	0.008	0.008	0.008	0.012	0.007	0.012
Layer 2							
Layer height	[m]	0.02	0.02	0.02	0.015	0.015	0.01
Thermal conductivity	[J.m ⁻¹ .K ⁻¹]	0.4	0.4	0.4	0.6	0.59	0.6
Density	[kg.m ⁻³]	1035	1035	1035	1035	1039	1035
Specific thermal capacity	[J.kg ⁻¹ .K ⁻¹]	3500	3500	3500	3800	3860	3800
Penetration depth	[m]	0.008	0.008	0.016	0.012	0.007	0.012

and vertical temperature profile through the slab in five different times can be stored at once during heating. Results can be shown in a graphic way as well as stored data can be used in other spreadsheet programs.

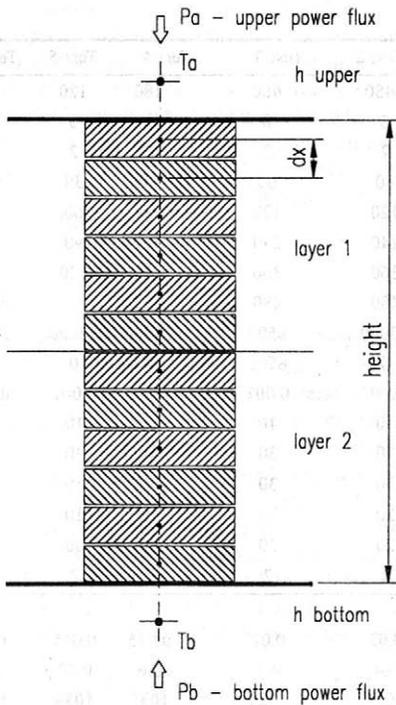
Influence of process parameters (thickness of slab, number, properties and thickness of sub-layers, value of power flux on both slab faces, initial and boundary conditions) on vertical temperature distribution in the slab and the rate of heating in certain points in the slab can be followed from the results of computation.

RESULTS AND DISCUSSION

Testing of the model

Various sets-up of process parameters were used for the testing of the programme to evaluate its performance and validity. Model conditions for heating together with

those from practical applications were used as process parameters. The vertical temperature profiles in the slab during heating and time-temperature dependency for selected points inside the slab were followed and their change in dependence on the variation of process parameters was judged. Some results of this series of model computations are given in Figs 2–4. The influence of process parameters on the vertical temperature profiles in the heated slab (the thickness of 40 mm) during the heating of 480 s can be followed in these figures. In all calculations, the slab consists of two sub-layers of the same thickness. The same values of physical properties of the sub-layers were considered in Figs 2 and 3, different values of depth of penetration of the sub-layers (8 mm for upper and 16 mm for bottom sub-layer) in Fig. 4. Symmetrical heating from upper and bottom surfaces was considered in Figs 2 and 4, but radiation falling only upon the upper surface in Fig. 3.



1. Scheme of a layered slab for model calculation

All input parameters for calculations related to Figs 2–4 are in Table I (indicated as Test 1 – Test 3).

Experiments for model verification

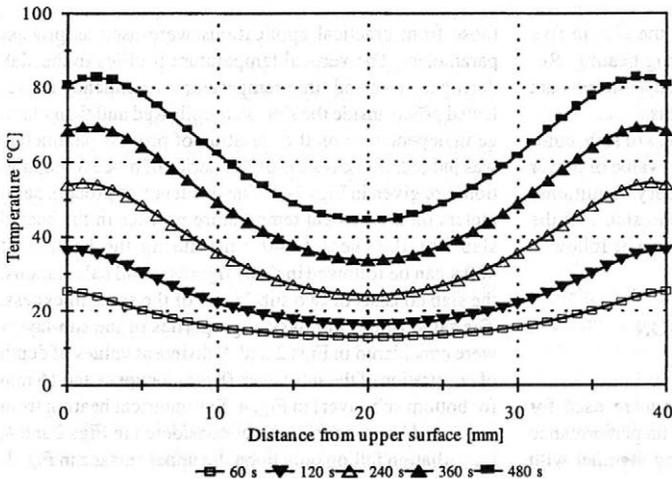
Experiments with some food samples (model material and real food products) heated in flat one-portion trays in a microwave oven were performed to evaluate model validity and accuracy in prediction.

Domestic microwave oven Moulinex FM 2915 Q (850 W, 24 l of cavity volume, without turntable) was used together with Luxtron's thermometric system (Luxtron Corp., Cal., USA) with four fiberoptic probes MIW-2 m for local temperatures monitoring. Temperature data were collected at an interval of 2 s by four-channel data acquisition system and transported to the computer via serial port RS 232.

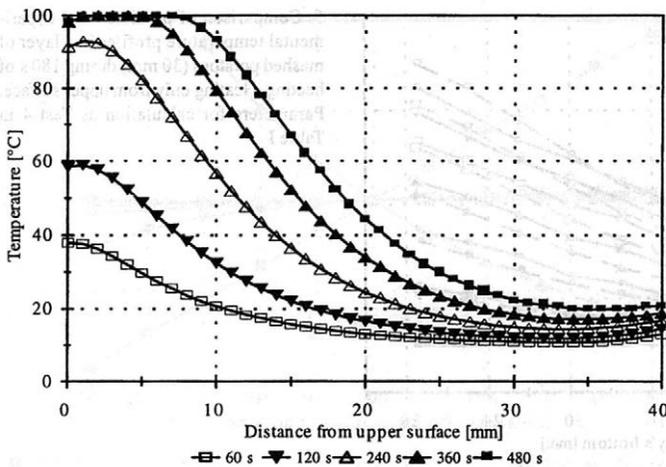
The samples of dry mashed potatoes and water mixture (87% moisture, 20 and 30 mm height of layer in the tray), slices of dumpling (44.6% moisture, 1 slice of 30 mm thickness in the tray), tomato sauce (88% moisture, 30 mm layer), cream sauce (87% moisture, 30 mm layer) and cooked pasta (68% moisture, 30 mm layer) were gradually used in the experiments. The food samples were filled and heated in flat one-portion trays for sterilized ready meals (aluminium-foil trays, volume of 460 ml, height of tray 36 mm, Alcan, Germany) and heated without the lid. Only one-side irradiation (from free upper surface) is allowed using this type of tray, which simplifies the simulation of heating.

For comparison with model calculations, four points at nine (mashed potatoes) or five (other types of food) levels of heated material layer were selected for temperature probe installation and temperature measurement (all points near the geometric centre of individual layers). Except of the experiments with heating of dumplings, the special holder was used to fix Luxtron's probes position inside the samples during heating.

The local temperatures of samples were monitored from initial temperature of 10 to 60 °C as a minimal temperature. Measurements were carried out in triplicate and mean values of temperatures in individual measured points were estimated. The mean value of temperatures for each probe level (mean of four local temperature values) was calculated, too. The comparison of predicted and experimental temperatures in individual points of food samples was made.



2. Vertical temperature distribution in a slab during the microwave heating – model prediction. Slab thickness of 40 mm. Symmetrical heating both from upper and bottom faces of the slab. Parameters for calculation as Test 1 in Table I



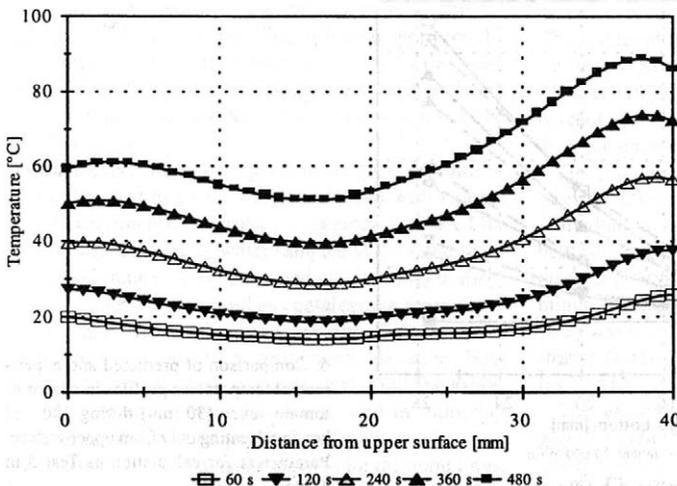
3. Vertical temperature distribution in a slab during the microwave heating – model prediction. Slab thickness of 40 mm. Heating only from upper surface. Parameters for calculation as Test 2 in Table I

The comparison of predicted and experimental vertical temperature profiles in a heated sample of mashed potatoes (layer of 20 mm) and of tomato sauce (layer of 30 mm) is represented in Figs 5 and 6. Time of heating is 180 s for Fig. 5, and 120 s for Fig. 6. Chemical composition of both foods is in Table II, thermo-physical and dielectric properties together with other input parameters used for model computation in Table I (Test 4, Test 5). The first initial minutes of heating were selected for comparison of experimental and predicted values because of a low level of moisture evaporation at this time (in the model, an influence of moisture evaporation on heat transfer is neglected).

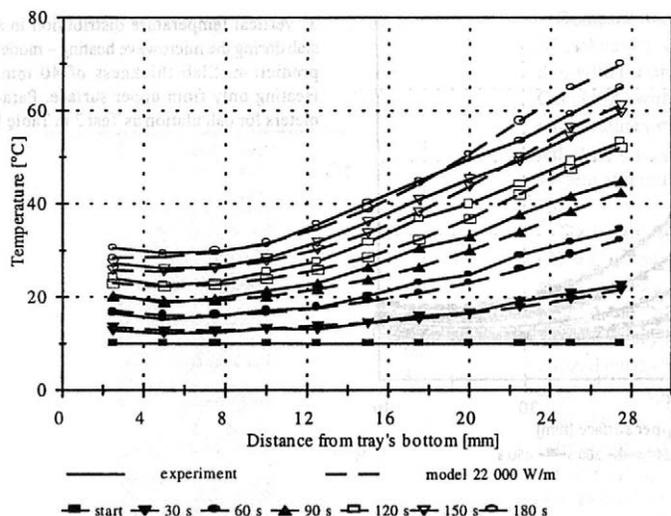
As can be observed from the figures, relative good agreement of model prediction with results of experiments was estimated for mashed potatoes and tomato sauce, both in the shape of profiles and in the values of temperature. Prediction of temperature profiles for cream sauce gives good agreement with experimental measured profiles, too.

A little worse was the comparison of the model prediction with the results of experiments for dumplings and pasta. There are possibly different reasons for this fact. One of them is an accuracy of measurements which is influenced by the structure of such foods as dumplings and pasta. Different size and different placement of pores in the samples of dumplings or between the individual pieces of pasta make difficulties at the exact probe installation and worsen the reproducibility of results. The other reason is the values of physical properties and the value of microwave power flux used for the model calculations in these cases.

The thermophysical properties of foods for model calculations were taken partly from experiments (mashed potatoes – Ambros, 1993), partly were calculated using COSTHERM programme (conceived by Miles et al., 1983, improved by Nesvada, 1989) according to the chemical composition of food. The dielectric properties (ϵ' , ϵ'' or D_p) were taken from literature in all cases (Kent,



4. Vertical temperature distribution in a slab during the microwave heating – model prediction. Slab of 40 mm thickness consisting from two sub-layers of different depth of penetration (8 mm upper, 16 mm bottom sub-layer) and of the same thickness (20 mm). Symmetrical heating. Parameters for calculation as Test 3 in Table I



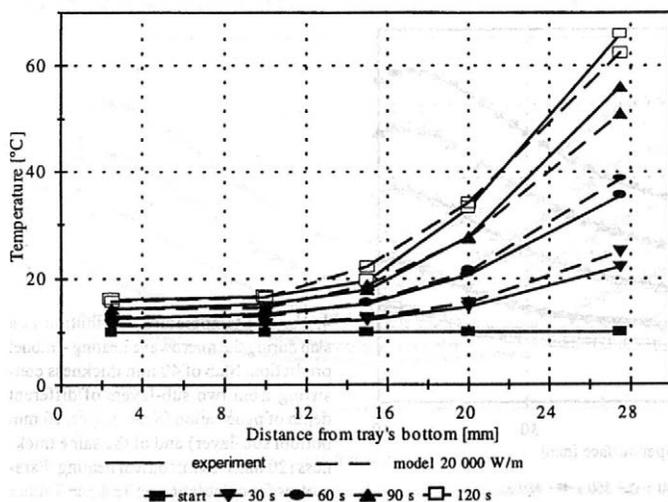
5. Comparison of predicted and experimental temperature profiles in a layer of mashed potatoes (30 mm) during 180 s of heating. Heating only from upper surface. Parameters for calculation as Test 4 in Table I

II. Chemical composition of foods used at comparative experiments

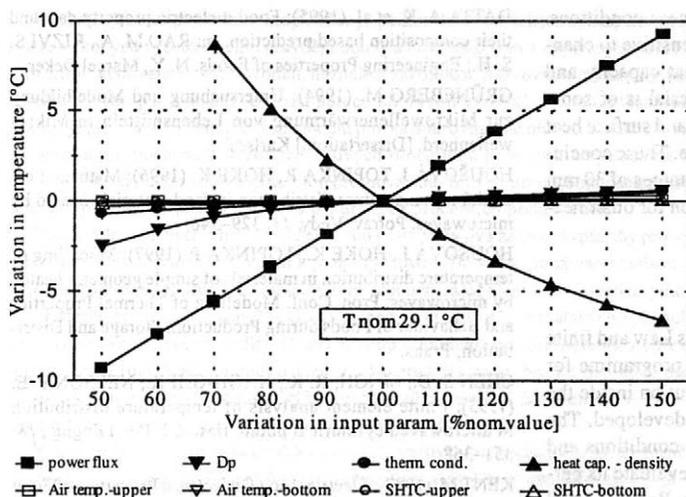
Food	Chemical composition					
	Water	Protein	Fat	Carbohydrates	Minerals	NaCl
Mashed potatoes	86.94	1.59	0.06	11.12	0.04	0.04
Tomato sauce	88.40	0.95	0.30	9.16	1.19	0.77

1987; Ohlson, 1993; Datta et al., 1995). As the detailed description of food in the literature is often missing, the values were selected only according to the name of food and to the microwave frequency. Only in some cases the selection was made also according to the chemical composition of food and to the temperature range. In this

situation, the reliability of many of selected values is not very high. Only the data for mashed potatoes may be considered as relatively reliable. No values of dielectric properties for dumplings could be found in the available literature and therefore the value for bread was used in this case, but the differences probably exist.



6. Comparison of predicted and experimental temperature profiles in a layer of tomato sauce (30 mm) during 120 s of heating. Heating only from upper surface. Parameters for calculation as Test 5 in Table I



7. Sensitivity analyses – change in temperature versus the corresponding percent change of model parameters. Calculation for centre of mashed potatoes layer of 20 mm. Heating only from upper surface. Parameters for calculation as Test 6 in Table I

Further problem with validity of model prediction is the value of microwave power (or power flux) used for predictive calculations.

First computations were made using the values found out according to IEC 705 Standard (IEC, 1988, 2nd ed., calorimetric method, heating of 1 l potable water). A comparison of results of these calculations with experiments has shown the too high rate of heating, the reason of which was probably to high value of power used in calculations.

Some publications from recent years give attention on influence of food volume on power dissipated in food during heating ("coupling effect" – Mudgett, 1994; Riva et al., 1994; Grüneberg, 1994; Persh-Schubert, 1995). According to this publications, the real value of power dissipated in a certain volume of material decreases with this volume. The difference between the value of power absorbed during the heating by the water sample of 1000 ml and by the food sample with moisture about 80% or less and volume about 300–400 ml can be therefore supposed.

Special experiments were performed to find the value of power absorbed by small samples of foods with volume like in experiments. Calorimetric methods were used for this purpose. Heating of water samples of the same volume as food samples was performed at full setting of magnetron. Alu-trays were used as containers in these experiments and the heating was performed from water temperature of 10 ± 2 °C at temperature elevation about 10 ± 2 °C. Ten measurements were carried out and average values of power were found and used in following calculations for mashed potatoes and both sauces.

Because of a lower moisture content for the dumplings, the values obtained by this method are not too reliable.

Sensitivity analysis

To determine how changes in various parameters for model calculation may affect the prediction of thermal behaviour, a sensitivity analysis was conducted. The sensitivity of temperature predicted for certain points inside the slab to change in parameters such as power flux, temperature of air around the slab (upper, bottom), surface heat transfer coefficient (upper, bottom) and properties of heated material (density, heat capacity, thermal conductivity, depth of penetration) was evaluated. Nominal values of each parameter were varied in steps on 10% over a range –50 to +50%. During the variation of one parameter the others were kept constant. The temperature corresponding to the change (increase, decrease) of a parameter was compared with the original (nominal) value. Their difference was expressed also as a percentage of nominal value. The results of analysis were expressed also as a relative sensitivity. According to Lin et al. (1995) and Houšková et al. (1996), the relative sensitivity was calculated as a percent variation of temperature change to a corresponding percent variation of model parameter.

Fig. 7 shows a plot of the change in predicted temperature (in °C) versus the corresponding percent change in individual model parameters when other parameters are held constant. Calculation was performed for the centre of mashed potatoes layer of 30 mm thickness and second minute of heating. Only one side heating (from upper surface) was considered (simulation of food heating in Alu-trays). Nominal values of model parameters are in Table I (as Test 6).

The sensitivity of a model to change in input parameters gives an indication of the level of care which must be given to using different input parameters, and whether it is safe to assess parameters to be constant or account for

changes in *its* value with change in process conditions. As may be observed, the model is very sensitive to change in microwave power, density and heat capacity and also depth of penetration of heated material is of some importance. Surrounding air temperature and surface heat transfer coefficient have a minor influence. These conclusions are related to the layer of mashed potatoes of 30 mm thickness and one side heating. Calculation for other heating conditions is providing now.

Conclusions

By using the energy equation, Lambert's Law and finite difference method, the relatively simple programme for prediction of vertical temperature distribution inside the layered slab heated by microwaves was developed. The model was tested under various process conditions and compared with results of experiments to evaluate its performance and the exactness of prediction. Relative good agreement was found out by comparison of prediction and results of experiments in the cases of mashed potatoes, tomato and cream sauces, but some differences both in the shape of temperature profiles and in heating rate, were found out in the case of the dumpling heating. The possible reasons are discussed. One of them is the value of physical parameters of process, namely reliability of dielectric properties used for calculations. In all tested cases, the response of predicted temperature distribution in a layer of material to a change in process parameters was considered as real. Validity of prediction is very much influenced by values of input parameters used for calculation. Sensitivity analysis has shown that namely the value of power flux and some physical properties of heated material very much influence on the prediction. Using the parameters of limited values, the validity of prediction is lowered. More effort to obtain real values of thermal and dielectric properties of various food products, especially cooked foods at condition of microwave heating (temperature, frequency), is necessary to produce the more reliable results by the predictive model.

References

AMBROS F. (1993): Fyzikální vlastnosti bramborové kaše. [Zpráva.] Praha, ČVUT.
 AYAPPA K. G., DAVIS H. T., CRAPISTTE G., DAVIS A. E., GORDON J. (1991): Microwave heating: An evaluation of power formulation. *Chem. Engng Sci.*, 46: 1005–1016.
 DATTA A. K., PROSETYA H., HU W. (1992): Mathematical modeling of batch heating of liquids in a microwave cavity. *J. Microwave Power Electromagnetic Energy*, 27(1).

DATTA A. K. et al. (1995): Food dielectric property data and their composition based prediction. In: RAO M. A., RIZVI S. S. H.: *Engineering Properties of Foods*. N. Y., Marcel Deker.
 GRÜNEBERG M. (1994): Untersuchung und Modelbildung zur Mikrowellenerwärmung von Lebensmitteln in Mikrowellenherd. [Dissertation.] Karlsruhe.
 HOUSOVÁ J., TOPINKA P., HOKE K. (1996): Mathematical model of temperature distribution in food materials heated by microwaves. *Potrav. Vědy*, 14: 329–346.
 HOUSOVÁ J., HOKE K., TOPINKA P. (1997): Modelling of temperature distribution in materials of simple geometry heated by microwaves. *Proc. Conf. Modelling of Thermal Properties and Behaviour of Foods during Production, Storage and Distribution*, Praha.
 CHEN S. D., SINGH, R. K., HAGHIGHI K., NELSON P. E. (1993): Finite element analysis of temperature distribution in microwaved cylindrical potato tissue. *J. Food Engng.*, 18: 351–368.
 KENT M. (1987): *Electrical and Dielectrical Properties of Food Material*. Science and Technol. Publ. Ltd.
 KIRK D., HOLMES A. W. (1975): The heating of foodstuffs in a microwave oven. *J. Food Technol.*, 10: 375–384.
 LIN Y. E., ANANTHESWARAN R. C., PURI V. M. (1995): Finite element analysis of microwave heating of solid foods. *J. Food Engng.*, 25: 85–112.
 MUDGETT R. E. (1995): Electrical properties of foods. In: RAO M. A., RIZVI S. S. H.: *Engineering Properties of Foods*. N. Y., Marcel Deker.
 NYKVIST W. E., DECAREAU R. W. (1976): Microwave meat roasting. *J. Microwave Power*, 11: 3–24.
 OHLSSON T., BENGSTON N. E. (1971): Microwave heating profiles in food. *Microwave Energy Appl. Newsl.*, 4: 1–8.
 OHLSSON T., RISMAN P. O. (1993): Temperature distribution in microwave oven heating – The influence of different cavity modes. *Proc. ICFFE, Chiba, Japan*.
 PERCH C., SCHUBERT H. (1995): Characterisation of household microwave ovens by their efficiency and quality factor. *Proc. 30th Microwave Power Symp. Denver, USA*.
 RENNEN H. H. J. van, PONNE C. T., NIJHUIS H. H., BARTELS P. V., KERKHOF P. J. A. M. (1996): Microwave heating distribution in slabs, spheres and cylinders with relation to food processing. *J. Food Sci.*, 61: 1105–1110, 1117.
 RIVA M., FRANZETTI L., MATTIOLI A., GALLI A. (1994): Microorganisms lethality during microwave cooking of ground meat. *Ann. Microbiol., Enzymol.*, 43: 115–129.
 TONGC. H., LUND D. B. (1993): Microwave heating of baked dough products with simultaneous heat and moisture transfer. *J. Food Engng.*, 19: 319–339.

Received July 17, 1998

Rozšířený souhrn

V případě potravin je mikrovlnný ohřev především využíván pro tepelnou regeneraci předem připravených, většinou zcela tepelně dohotovených potravin. Výrobci potravin reagují na rostoucí popularitu mikrovlnných zařízení přípravou speciálních výrobků, hlavně hotových pokrmů, dodávaných na trh v chlazené, zmrazené či sterilované podobě.

Úspěch výrobků pro mikrovlnný ohřev je podmíněn specifickým přístupem k jejich vývoji. Nerovnoměrný ohřev je v případě vicesložkových výrobků velmi pravděpodobný a může se projevit i výrazným poklesem kvality po ohřevu. Příčinou je nedostatečná pozornost věnovaná vývoji výrobků, neznalost zákonitostí mikrovlnné technologie či nerespektování specifické interakce mikrovln s jednotlivými potravinami. Určitou pomoc při vývoji výrobků pro mikrovlnný ohřev nabízí matematické modelování procesu. I když je při tvorbě matematických modelů proces mikrovlnného ohřevu značně zjednodušen, nabízí prostředek pro lepší porozumění procesu a pro pochopení vazby jednotlivých procesních podmínek s výsledným efektem, tedy s rozložením teplot ve výrobku v jednotlivých fázích ohřevu. S určitou přesností souvisící s mírou zjednodušení popisu procesu při tvorbě matematického modelu nabízí i předpověď průběhu ohřevu při určitých procesních podmínkách.

Při modelování mikrovlnného ohřevu jsou používány dva základní způsoby pro vyjádření rozptýlení energie mikrovln v objemu ohříváné látky. První, a vzhledem k jednoduchosti stále velmi používaný způsob, vychází z Lambertova zákona, podle kterého energie mikrovln při průchodu dielektrikem exponenciálně klesá v závislosti na jeho dielektrických vlastnostech. Lambertův zákon platí přesně pro těleso nekonečně tloušťky, což ve většině potravinářských aplikací není zcela pravda, přesto však v řadě případů poskytuje uspokojivé výsledky. Druhý přístup k modelování mikrovlnného ohřevu je založen na řešení Maxwellových rovnic, popisujících rozložení parametrů elektromagnetického pole. Nabízí přesnější předpověď ohřevu, numerický výpočet je však časově velmi náročný, vyžaduje výkonný počítač a speciální programové vybavení. Modely mikrovlnného ohřevu založené na řešení Maxwellových rovnic se objevují v publikacích od začátku 90. let.

V tomto článku je popsána tvorba a výsledky testování jednoduchého jednorozměrného modelu mikrovlnného ohřevu materiálu ve tvaru ploché vrstvy. Model byl vyvíjen s cílem získat poměrně jednoduchý prostředek, který by umožnil sledovat rozložení teploty v materiálu při změně jeho fyzikálních parametrů či rozměrů nebo při změně výkonových a dalších parametrů ohřevu.

Přístup ke tvorbě modelu byl obdobný jako při vývoji předchozího dvourozměrného modelu mikrovlnného ohřevu materiálu válcové geometrie (H o u š o v á et al., 1996). Na rozdíl od modelu pro válcové těleso je v případě ploché vrstvy předpokládán vícenásobný průchod mikrovln vrstvou materiálu až do poklesu jejich výkonu na volitelnou mezní hodnotu (bez vnitřních odrazů). Je předpokládán vnitřní přenos tepla kondukcí a přenos tepla mezi povrchem vrstvy a okolním prostředím konvekcí při konstantní teplotě prostředí i konstantní hodnotě součinitele konvektivního přenosu tepla. Dále předpokládáme možnost vyjádřit tepelné fyzikální a dielektrické vlastnosti materiálu v závislosti na teplotě. Model pracuje s hodnotou penetrační hloubky materiálu. Není uvažován přenos hmoty – odpařování vlhkosti při dosažení teploty 100 °C je zohledněno v energetické bilanci. Mezi vstupními parametry pro výpočet jsou dále: výkonová hustota (W/m^2 – lze volit rozdílné hodnoty pro horní i spodní povrch vrstvy), teplota okolí a koeficient konvektivní výměny tepla, skladba vrstvy materiálu (lze simulovat ohřev vícevrstevného výrobku, počet vrstev různých vlastností a různé výšky je volitelný) a doba ohřevu i případná závěrečná vyrovnávací prodleva.

Numerická kalkulace je založena na metodě konečných diferencí s konstantním rozměrem sítě, vázaným s časem kritériem stability řešení. Vypočtené hodnoty jsou zpracovávány do grafických závislostí teplota – čas (pro pět volitelných bodů ve vrstvě) a do podoby vertikálního teplotního profilu (profil lze sestavit pro pět volitelných částí).

Model byl testován pro různé varianty vstupních parametrů, aby byla zhodnocena jeho funkčnost, výkonnost i věrohodnost odezvy výsledků výpočtu na změnu zadání. Testování modelu prokázalo, že odezva vypočtených hodnot na zadání i tvary graficky zpracovaných výsledků jsou reálné.

Pro posouzení věrohodnosti vypočtených teplot byla provedena řada experimentů s ohřevem modelové látky (bramborová kaše určitého složení) i potravin vyskytujících se jako složky běžných typů pokrmu. Výběr materiálů byl podřízen možnosti získat co nejvěrohodnější údaje o jejich fyzikálních zejména dielektrických vlastnostech, které byly čerpány výhradně z literatury. Byly porovnány experimentální i vypočtené teploty pro ohřev bramborové kaše, rajské a svičkové omáčky a plátků knedlíků při jednostranném ohřevu vrstvy shora (při experimentech použity ploché misky z hliníkové fólie). V diskusi je konstatováno, že míra shody je ovlivněna nejen matematickým modelem, ale i věrohodností zadávaných vstupních parametrů (jde zejména o věrohodnost hodnot fyzikálních vlastností ohříváných materiálů přebíraných z literatury a reálných hodnot výkonové hustoty pro konkrétní případ malého objemu potravin a použitý obal) a přesností a reprodukovatelností teplotních měření. Dobrou shodu vykázalo porovnání vypočtených a experimentálních hodnot pro případ ohřevu bramborové kaše a dvou typů omáček (rajská, svičková), horší shodu porovnání hodnot pro ohřev plátků knedlíků. Předpokládané důvody horších výsledků pro knedlíky jsou v článku komentovány. Srovnávací experimenty s dalšími typy pokrmových složek probíhají.

Pro stanovení míry vlivu jednotlivých vstupních parametrů pro výpočet na výši vypočtených teplot byla provedena analýza citlivosti modelu. Analýza byla provedena pro střed 20mm vrstvy bramborové kaše při jednostranném ohřevu (přes horní povrch vrstvy – simulace ohřevu v hliníkové misce). Analýza prokázala, že výsledek výpočtů, tj. jednotlivých hodnot teploty, ovlivňuje především hodnota mikrovlnného výkonu, resp. výkonové hustoty, a dále hustota, měrná tepelná kapacita a v menší míře penetrační hloubka ohříváného materiálu. Vliv teploty okolí a součinitele konvektivní výměny tepla je nevýznamný. Výsledky analýzy upozorňují, s jakou přesností je třeba při modelových výpočtech používat parametry s nejvýznamnějším vlivem, a potvrzují nutnost podstatně rozšířit dostupné údaje o fyzikálních vlastnostech potravin, zejména ve směru dielektrických vlastností.

Testování modelu mikrovlnného ohřevu potvrdilo jeho použitelnost podle záměru jeho vývoje. Modelem, umožňujícím s určitou přesností předpověď rozložení teplot ve vrstvě potravin v různých fázích ohřevu i během postprocesní vyrovnávací výdrže, lze

velmi dobře sledovat změnu průběhu ohřevu při záměně suroviny, při změně rozměru či skladby vrstvy i při změně výkonu použitého zařízení. Je použitelný pro simulaci ohřevu výrobku jak v transparentním obalu, tak např. v hliníkové misce. To vše může pomoci při vývoji výrobků pro mikrovlnný ohřev a to od výběru surovin pro vícerozložkové výrobky, jejich optimální porcování či dávkování do obalu až po volbu optimálních rozměrů obalu tak, aby se lokální teplotní rozdíly při mikrovlnném ohřevu minimalizovaly.

Sourn

HOUŠOVÁ J., HOKE K., TOPINKA P. (1998): Rozložení teplot ve vrstvě potraviny při mikrovlnném ohřevu. Czech J. Food Sci., 16: 179–188.

Článek popisuje relativně jednoduchý počítačový program, vyvinutý pro předpověď rozložení lokálních teplot ve vrstvě potraviny za určitých podmínek mikrovlnného ohřevu. Model je založen na Fourierově rovnici vedení tepla s vnitřním zdrojem energie a na Lambertově zákoně předpokládajícím exponenciální pokles výkonu mikrovln při jejich průchodu materiálem. Při vývoji modelu byla uplatněna řada předpokladů pro popis děje, např. vícenásobný průchod mikrovln vrstvou materiálu. Pro numerické řešení rovnic byla použita metoda konečných diferencí. Model byl testován pro řadu různých procesních podmínek při sledování jeho spolehlivosti a reálnosti odezvy výpočtů na změnu zadání. Pro ověření pravdivosti výpočtů byla provedena řada experimentů s různými potravinami (bramborová kaše, rajská a svičková omáčka, plátky knedlíků). Dobrou shodu vykazalo zejména porovnání vypočtených a naměřených teplot pro případ ohřevu vzorků bramborové kaše a obou omáček. Důvody pro horší úspěšnost předpovědi průběhu teplot u plátků knedlíků jsou diskutovány. Provedená analýza citlivosti modelu definuje parametry ohřevu, resp. vstupní parametry výpočtu s mimořádným vlivem na výsledky výpočtu. Jde o hodnotu mikrovlnného výkonu, měrné hmotnosti a měrné tepelné kapacity ohřívané látky, ale i o hodnotu dielektrických vlastností.

mikrovlnný ohřev; matematický model; rozložení teplot

Contact address:

Ing. Jiřina Houšová, CSc., Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10-Hostivař, Česká republika, tel.: + 420 2 70 59 07, fax: + 420 2 70 19 83, e-mail: housova@vupp.cz

Reologické vlastnosti ovocných dření v průběhu zahušťování*

Milan HOUŠKA, Karel KÝHOS, Rudolf GRÉE, Jan STROHALM, Aleš LANDFELD,
 Pavla NOVOTNÁ, Jiří ŠVADLENKA¹, Lubomír ADÁMEK

Food Research Institute Prague, Prague, ¹Deva, a.s., Nové Město nad Metují, Czech Republic

Abstract

HOUŠKA M., KÝHOS K., GRÉE R., STROHALM J., LANDFELD A., NOVOTNÁ P., ŠVADLENKA J., ADÁMEK L. (1998):
Rheological properties of fruit pulp during concentration. Czech J. Food Sci., 16: 189–194.

The rheological properties of the reference fruit pulp were measured; it provides the optimum consistency of fruit baby food. These properties should be reached for all the semiproductions used for preparing fruit baby food of different sorts. To reach this goal the semiproductions should be thickened by evaporation not to standard refractive index (dry matter) but to the constant rheological properties. The second possibility to regulate the rheological properties is to add the specific amount of fruit or other natural dry fibers. Therefore we measured the changes of rheological properties of fruit pulps during their thickening by evaporation and as a function of concentration of added dry fibers (here used the chitosan type of fibers). The power-law rheological model was used for description of flow curves and its parameters evaluated as functions of refractive dry matter and amount of added chitosan for different temperatures. Two typical fruit pulps were measured – apricot and peach.

rheological properties; power-law model; concentration; fruit pulp; fiber; apricot; peach

Souhrn

HOUŠKA M., KÝHOS K., GRÉE R., STROHALM J., LANDFELD A., NOVOTNÁ P., ŠVADLENKA J., ADÁMEK L. (1998):
Reologické vlastnosti ovocných dření v průběhu zahušťování. Czech J. Food Sci., 16: 189–194.

Byly proměřeny reologické vlastnosti vzorové ovocné dřeň pro optimální konzistenci ovocné dětské výživy. Všechny výrobky tohoto typu vyráběné z ovocných polotovarů by měly mít tyto vlastnosti. Dosažení tohoto cíle předpokládá zahušťování polotovarů na konstantní konzistenci, nikoli refrakci, jak je tomu doposud. Proto byly proměřeny reologické vlastnosti typických ovocných dření v závislosti na refrakci v průběhu zahušťování odparem a při zahušťování přidavkem vlákniny chitosan. K popisu reologických vlastností dření byl použit mocninový model a určeny jeho parametry jako funkce teploty a refraktometrické sušiny pro dva typické druhy ovocných dření – broskvovou a meruňkovou.

reologické vlastnosti; mocninový model; zahušťování; ovocná dřeň; vláknina; broskev; meruňka

Dosavadní způsoby přípravy ovocných polotovarů jsou orientovány na dosažení konstantní refraktometrické sušiny. V závislosti na teplotní a mechanické historii polodů, stavu struktury a stupni zralosti se při dané refrakci docílí určité, avšak velmi kolísající konzistence polotovaru. Pokud je v dalším procesu výroby vyloučeno nebo omezeno použití zahušťujících látek, je jedinou cestou k dosažení stálosti konzistence finálních výrobků provádět při přípravě polotovarů regulaci na viskozitu a ne na refrakci. Ideální by bylo použít definovaných a vhodných odrůd ovoce sklizeného v zralosti optimální pro tyto účely. Průběh produkce obvykle neodpovídá požadavkům a kapacitě zpracovatelů. Proto je jednou z možných cest provádět zahušťování prvotně získané ovocné dřeň odpařováním do konstantní konzistence.

Jedním z cílů této práce bylo provést modelové odpařovací pokusy v pilotní odpařovací jednotce a v jednotlivých fázích odpařování odebraných vzorků proměřit reologické vlastnosti. Takto získaná data byla porovnána se vzorkem, jehož reologické vlastnosti se blíží požadovanému charakteru konzistence pro daný výrobek (v tomto případě pro dětskou ovocnou výživu).

Dalším způsobem zahušťování polotovaru je přidat do ovocné dřeň ovocnou nebo jinou potravinářskou vlákninu. Výhodou je, že produkt se nemusí znovu ohřívát, a proto je energeticky výhodnější, a kvalitativní znaky (např. barva) neutrpí. Proto jsme postupně zahušťovali meruňkové dřeň vlákninou chitosan, proměřili reologické vlastnosti těchto zahuštěných vzorků a tyto výsledky porovnali s výsledky získanými u vzorků zahušťovaných odparem.

*Tato práce byla vypracována s podporou grantů NAZV č. EP 096 000 6634 a GA ČR č. 525/96/0060.

MATERIÁL A METODY

Zahušťování odparem

Odpařování bylo prováděno na pilotní odparce AV-50 opatřené topným pláštěm a systémem míchadla se stěrkami. Otáčky míchadla byly v průběhu pokusu konstantní (100 ot./min), k ohřevu produktu byla použita topná pára z parního elektrického vyvíječe Chirana o přetlaku 1,5 až 2 bary. Odpařování za sníženého tlaku (absolutní hodnota tlaku se měnila od 1 do 0,05 baru) probíhalo přerušovaně po odpaření předem zvoleného množství brýdového kondenzátu, aby došlo k zahuštění o příslušnou hodnotu refrakce. Po odběru vzorku a přeměření refrakce pokus pokračoval. Počáteční náplň odparky činila cca 35 litrů naředěné ovocné dřeně. První pokus byl uskutečněn s broskvovou dření a druhý s dření meruňkovou. Vzhledem k tomu, že druhý produkt po naředění enormně pěnil, bylo použito odpeňovaadlo Tekodef (VTX Nižbor) v dávce několika mililitrů na vsádku (vmícháno předem do cca 0,5 l produktu a vpraveno na hladinu). V průběhu odpařování byla měřena teplota vsádky a množství brýdového kondenzátu jako funkce času od startu vakuového varu, který byl indikován objevením se kondenzátu ve sběrači. Start varu musel být opatrně regulován vzhledem k nebezpečí pění a odtažení části produktu z vařáku odparky do sběrače kondenzátu.

U odebraných vzorků byla stanovena ihned refraktometrická sušina na refraktometru Zeiss a následně sušina sušením do konstantní hmotnosti v horkovzdušném sterilátoru Chirana zapojeném jako sušárna (při teplotě 105 °C). Reologické vlastnosti vzorků byly proměřeny při čtyřech teplotách – 60; 35; 25; 20 °C (teploty odpovídají průměrné teplotě zahušťování, teplotě, při níž opouští chladicí sekci pasteru ve výrobě, teplotě hodnocení produktu v praxi a v senzorické laboratoři). K měření byl použit rotační reometr se sousými válci Rheotest 2 – Typ RV2 (Medingen, SRN) s využitím válce S2. Použití válce S1 u některých vzorků vylučovala nehomogenní struktura obsahující hrudkovité částice způsobující nerovnoměrnost odečítaných dat. Při měření byla používána převážně měřicí hlava I, výjimečně pak hlava II. Metodicky bylo postupováno od nejmenších smykových rychlostí k největším. Tento postup byl pak dodržen pro všechny vzorky. K teplotě před měřením (10 min) byl použit Ultratermostat UH4-MLW (Medingen, SRN). Stejným způsobem byly stanoveny reologické vlastnosti vzorové broskvové dřeně, a tak byly získány informace o konečném reologickém chování správně připraveného polotovaru.

Zahušťování vlákninou

Pro experimenty byly připraveny vzorky meruňkové dřeně (výchozí polotovaz stejný jako pro zahušťování odparem o pH = 3,33) s přidávkem vlákniny chitosan (diétní vláknina z mycelia, vývojový výrobek VÚPP – Adámek, osobní sdělení) o koncentracích 0,5; 1; 2; 3; 4; 5 % hmot. Odvážené množství vlákniny bylo nasypano do dře-

ně, vzorky byly po zamíchání uloženy do chladničky. Vlastní měření proběhlo druhý den po dostatečném nabobtnání vlákniny ve dření. Před měřením byly vzorky znovu promíchány.

Reologické vlastnosti vzorků byly proměřeny při teplotě 20 °C (teplota odpovídá hodnocení produktu v praxi a v senzorické laboratoři). K měření byl použit rotační reometr se sousými válci Rheotest 2 – Typ RV2 (Medingen, SRN) za stejných podmínek jako při zahušťování odparem. K teplotě před měřením (10 min) byl použit Ultratermostat UH4-MLW (Medingen, SRN).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Vzorová broskvová dřeň

Reologické vlastnosti vzorové broskvové dřeně byly proměřeny při teplotách 65,4 a 23,3 °C. Refrakce tohoto vzorku byla cca 12 %. Regresí naměřených dat mocninovým modelem

$$\mu_a = K' \dot{\gamma}_{NN}^{n-1} \quad [1]$$

pro teplotu 23,3 °C a korekci smykové rychlosti na newtonské chování byla stanovena hodnota koeficientu konzistence $K' = 20,56 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$ při indexu toku $n = 0,238$ v rozsahu smykových rychlostí 1–280 s^{-1} . Jde tedy o silně viskózní newtonskou kapalinu bez časové závislosti. Pro porovnání s reometrickými daty zahuštěných vzorků byla uvedena hodnota koeficientu konzistence přepočtena na teplotu 20 °C (s využitím stanovených teplotních závislostí pro podobnou refrakci u zahušťovaných vzorků) s tím, že výsledná hodnota koeficientu konzistence činí 24,2 $\text{Pa}\cdot\text{s}^n$.

Při napodobování vzoru je tedy nutné dosáhnout nejen přibližně stejného koeficientu konzistence, ale i přibližně stejného indexu toku (přibližně stejné tokové křivky).

Broskvová a meruňková dřeň zahušťovaná odparem

Naměřená data smykových napětí jako funkce tabelovaných smykových rychlostí platných pro newtonské kapaliny byla přepočtena na zdánlivé viskozity a provedena regrese vztahem [1] včetně korekce smykové rychlosti na newtonské chování. Jelikož bylo zjištěno, že měřené kapaliny nevyhovují mocninovému modelu v celém měřeném rozsahu smykových rychlostí, bylo vyhodnocení mocninovým modelem provedeno po částech. Výsledné hodnoty koeficientů konzistence K' a indexů toku n pro různé teploty měření jsou uvedeny v tab. I–II.

Na obr. 1 je znázorněn typický průběh zdánlivé viskozity broskvové dřeně na smykové rychlosti. Z hodnot indexů toku je patrné, že kromě nejvyšších teplot a nejnižších refrakcí jde o kapaliny silně newtonské, které s rostoucí smykovou rychlostí značně snižují svou zdánlivou viskozitu. S rostoucí teplotou klesá koeficient konzistence K' , který byl námi zvolen za míru konzistence dané dřeně. Důvodem pro tuto volbu je skutečnost, že tato veličina představuje hodnotu zdánlivé viskozity pro poměrně malou smykovou rychlost (1 s^{-1}), která je velmi blízká roz-

I. Reologické parametry dření zahušťovaných odparem pro teplotu měření 20 a 25 °C – Rheological properties of fruit pulp thickened by evaporation for the measuring temperature of 20 and 25 °C

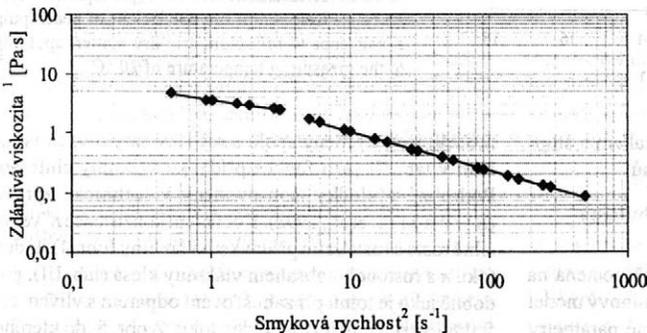
Dřeň ¹	Refrakce ⁴ [%]	K' [Pa.s ⁿ]	n [-]	Rozsah ⁵ $\dot{\gamma}_{NN}$ [s ⁻¹]		K' [Pa.s ⁿ]	n [-]	Rozsah $\dot{\gamma}_{NN}$ [s ⁻¹]	
				20 °C	25 °C			20 °C	25 °C
Broskvová ²	7,2	2,26	0,462	0,536–1,608		2,26	0,607	1,560–4,68	
		2,98	0,540	1,894–8,521		3,32	0,381	5,945–481,577	
		3,57	0,381	9,918–482,015					
	8	3,63	0,648	0,517–3,099		3,31	0,506	0,530–1,59	
		4,69	0,345	5,036–489,45		4,26	0,350	2,011–488,576	
	9,2	6,72	0,483	0,533–1,919		5,22	0,630	0,518–3,108	
		8,37	0,301	3,097–437,4		6,69	0,332	5,067–492,512	
	10,6	10,44	0,526	0,528–1,584		9,81	0,498	0,531–3,186	
		11,92	0,286	2,086–253,473		12,05	0,280	5,234–254,348	
	13	18,17	0,561	0,524–1,886		14,63	0,486	0,533–1,917	
19,85		0,251	3,218–260,69		19,03	0,259	3,194–517,444		
16,2	64,80	0,583	0,191–0,382		51,72	0,549	0,195–0,588		
	50,39	0,184	0,646–188,374		38,64	0,211	1,132–275,125		
Meruňková ³	7	0,41	0,602	25,296–455,333		0,58	0,538	9,477–460,582	
		1,16	0,496	8,610–464,956		0,91	0,559	1,888–9,441	
	8,5					1,07	0,495	14,351–464,956	
						3,82	0,355	0,557–10,026	
	11,5	3,41	0,432	1,948–473,267		2,78	0,464	14,472–468,893	
						8,20	0,251	0,596–6,431	
	14,2	9,06	0,262	0,590–3,54		7,08	0,401	4,919–239,039	
					6,07	0,417	8,805–237,727		
	12,16	0,394	9,864–479,39		10,69	0,402	14,756–478,078		

¹fruit pulp; ²peach; ³apricot; ⁴refraction; ⁵shear rate range

sahu, v němž probíhá senzorické hodnocení viskozity jako parametru textury. Metody stanovení této smykové rychlosti uvedli ve své práci H o u š k a et al. (1998b). S rostoucí refraktometrickou sušinou roste koeficient konzistence K' platný pro broskvovou dřeň (obr. 2) a pro meruňkovou dřeň (obr. 3). Dalším parametrem je index toku n , který poměrně silně klesá s rostoucí refrakcí a velmi

mírně roste s rostoucí teplotou. Podrobně jsou veškeré výsledky uvedeny v technické zprávě (H o u š k a et al., 1998b).

Srovnáním získaných parametrů s parametry vzorové broskvové dřeň je možné učinit závěr, že srovnatelného koeficientu konzistence je dosaženo pro zahuštění běžné dřeň až na refrakci 14 %. To však platí jen pro právě měře-



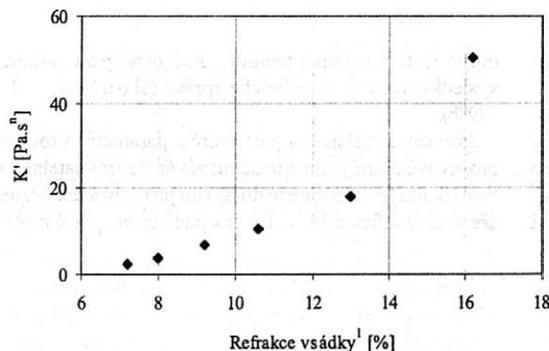
¹apparent viscosity; ²shear rate

1. Typická toková křivka pro broskvovou dřeň o refrakci 8 % měřená při teplotě 20 °C – Typical flow curve for apricot pulp with refraction 8% measured at a temperature of 20 °C

II. Reologické parametry dřeně zahušťovaných odparem pro teplotu měření 35 a 60 °C – Rheological properties of fruit pulp thickened by evaporation for the measuring temperature of 35 and 60 °C

Dřeň ¹	Refrakce ⁴ [%]	K' ⁵ [Pa.s ⁿ]	n [-]	Rozsah ⁵ $\dot{\gamma}_{NN}$ [s ⁻¹]		K' [Pa.sn]	n [-]	Rozsah $\dot{\gamma}_{NN}$ [s ⁻¹]
				35 °C	60 °C			
Broskvová ²	7,2	1,90	0,650	1,033–5,578		0,65	1,000	0,500–5,400
		2,97	0,366	8,982–485,077		2,17	0,337	9,104–491,638
	8	2,54	0,520	0,529–1,903		1,82	0,514	0,952–9,522
		3,46	0,348	3,019–489,013		2,56	0,347	15,107–489,451
	9,2	4,72	0,519	0,529–5,708		3,13	0,466	0,536–5,783
		6,88	0,324	9,161–494,699		4,00	0,314	9,218–497,761
	10,6	8,40	0,371	0,553–1,991		5,53	0,432	0,541–4,869
		9,96	0,288	3,124–281,151		6,39	0,316	6,14–497,324
	13	13,42	0,524	0,528–3,168		9,20	0,472	0,535–5,773
		16,25	0,264	5,306–515,695		12,74	0,279	9,437–509,571
16,2	23,07	0,474	0,535–3,207		18,15	0,446	0,539–5,816	
	28,36	0,257	5,333–518,319		22,43	0,253	9,631–520,069	
Meruňková ³	7	0,49	0,528	4,748–461,457		0,26	0,523	4,752–461,894
	8,5	0,89	0,494	8,610–464,956		0,62	0,455	9,666–469,778
	11,5	2,97	0,367	0,997–9,972		1,10	0,718	1,104–5,962
		2,16	2,232	14,459–468,455		1,82	0,401	8,853–478,078
	14,2	7,18	0,285	1,043–18,776		4,37	0,341	0,561–10,089
		4,47	0,444	26,195–471,517		3,21	0,424	14,648–474,579
	17	11,72	0,296	0,576–10,359		7,85	0,339	0,562–10,107
		8,23	0,420	14,661–475,014		5,67	0,410	14,715–476,766

¹fruit pulp; ²peach; ³apricot; ⁴refraction; ⁵shear rate range



¹batch refraction

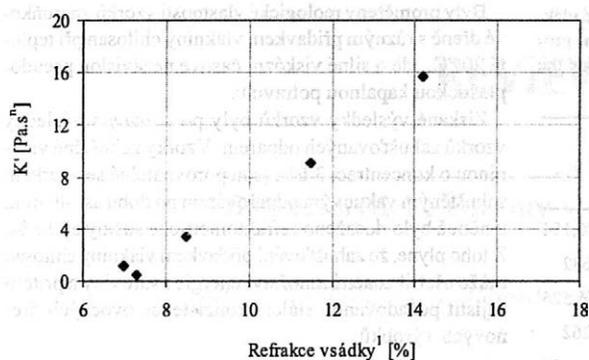
2. Závislost koeficientu konzistence broskvové dřeně na refraktometrické sušině (pro teplotu měření 20 °C) – Relation of the coefficient of peach pulp consistency to refractometric dry matter, applying to the measuring temperature of 20 °C

nou surovinu a stav její struktury daný obsahem a stupněm narušení obsažených přírodních pektinů.

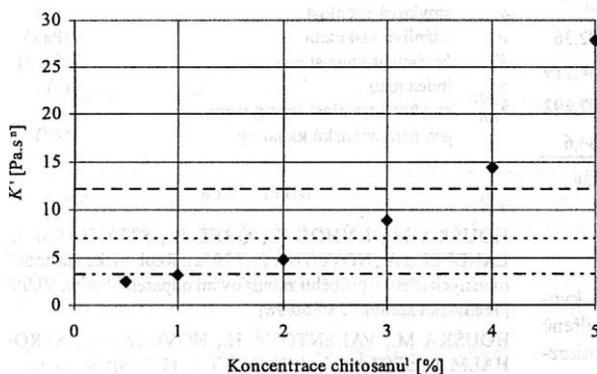
Reologické vlastnosti meruňkové dřeně zahuštěné přidávkem vlákniny

Naměřená data smykových napětí byla přepočtena na zdánlivé viskozity a opět byl aplikován mocninový model [1] a určeny jeho parametry K' a n . Získané parametry

modelu jsou uvedeny spolu s rozsahy smykových rychlostí v tab. III jako funkce přidavku vlákniny chitosan. Podrobné výsledky jsou uvedeny v technické zprávě (Strohalm et al., 1998). Koeficient konzistence K' velmi silně roste s rostoucím přidávkem vlákniny (obr. 4). Index toku n s rostoucím obsahem vlákniny klesá (tab. III), podobně jako je tomu při zahušťování odparem s vlivem refraktometrické sušiny na index toku. Z obr. 5, do kterého



3. Závislost koeficientu konzistence meruňkové dřevě na refraktometrické sušině (pro teplotu měření 20 °C) – Relation of the coefficient of apricot pulp consistency to refractometric dry matter, applying to the measuring temperature of 20 °C



¹batch refraction

²odparem

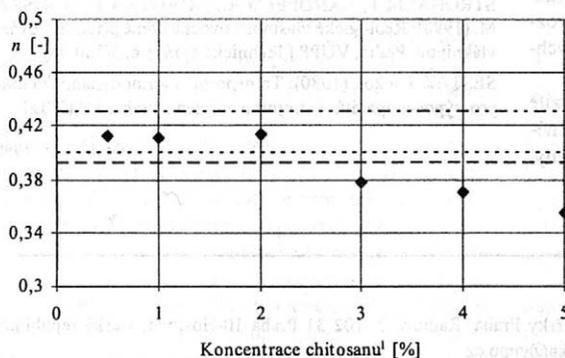
--- refrakce³ 11,5 %

..... refrakce 14,2 %

-.-.- refrakce 17 %

¹chitosan concentration; ²by evaporation, ³refraction

4. Závislost koeficientu konzistence meruňkové dřevě na přidavku vlákniny chitosan – Relation of the coefficient of apricot pulp consistency to the addition of chitosan fiber



²odparem

--- refrakce³ 11,5 %

..... refrakce 14,2 %

-.-.- refrakce 17 %

¹chitosan concentration; ²by evaporation, ³refraction

5. Závislost indexu toku n meruňkové dřevě na přidavku vlákniny chitosanu – Relation of apricot pulp creep index n to the addition of chitosan fiber

jsou vyneseny čáry odpovídající indexům toku odparem zahuštěné dřevě stanoveným při teplotě měření 20 °C, vyplývá, že s rostoucí koncentrací chitosanu klesá index toku, tj. roste odchylka od newtonského reologického chování.

Porovnání reologických vlastností meruňkové dřevě zahuštěné odparem a přidáním vlákniny

Porovnáním koeficientů konzistence meruňkových dřeví zahuštěných odparem (obr. 3) a zahuštěných přidavkem vlákniny (obr. 4) jsme zjistili, že vakuovému zahušťování

meruňkové dřevě odpovídá zahuštění vlákninou chitosan (srovnání platí pro $T = 20$ °C):

refrakce (při zahuštění odparem)	přídavek chitosanu
11,5 %	1,2 %
14,2 %	2,6 %
17,0 %	3,6 %

Z těchto výsledků vyplývá, že přidavkem vlákniny do ovocného polotovaru je možné ušetřit čas i energii. Výsledný produkt navíc získá vlákninu, která je prospěšná lidskému zdraví a produkt bude mít standardní reologické parametry.

III. Reologické parametry meruňkové dřene zahušťované vlákninou Chitosan pro teplotu měření 20 °C – Rheological properties of apricot pulp thickened by chitosan fiber for the measuring temperature of 20 °C

Dřeň ¹	Přídavek chitosanu ⁴ [%]	K' [Pa.s ⁿ]	n [-]	Rozsah ⁵ $\dot{\gamma}_{NN}$ [s ⁻¹]
Meruňková ²	0,5	2,556	0,413	1,959–476,154
	1	4,541	0,139	1,423–7,682
		3,188	0,411	8,825–476,526
	2	6,936	0,162	0,672–7,262
		4,754	0,414	8,816–264,475
	3	8,899	0,33	0,564–9,139
		8,89	0,378	9,925–482,36
	4	14,372	0,37	0,996–484,119
	5	27,892	0,355	0,557–487,292
	0	0,994	0,367	2,992–484,6

¹pulp; ²apricot; ³addition of chitosan fiber; ⁴shear rate range

Závěry

Byly proměřeny reologické vlastnosti vzorové broskvové dřene. Při 20 °C je koeficient konzistence této dřene $K' = 24,2 \text{ Pa.s}^n$ při indexu toku $n = 0,238$. Jde o silně viskozozní časově nezávislou silně pseudoplastickou kapalnou potravinu.

Byly proměřeny reologické vlastnosti broskvové a meruňkové dřene jako funkce refraktometrické sušiny v rozsahu 7–17 %, teploty v rozsahu 20–60 °C a smykové rychlosti v rozsahu 0,5–500 s⁻¹.

Byly získány závislosti refrakce na zdánlivé viskozitě pro danou teplotu, z nichž je možné určit refrakci konečného produktu pro dosažení požadované hodnoty viskozity.

Byly proměřeny reologické vlastnosti vzorků meruňkové dřene s různým přídavkem vlákniny chitosan při teplotě 20 °C. Jde o silně viskozozní časově nezávislou pseudoplastickou kapalnou potravinu.

Získané výsledky vzorků byly porovnány s výsledky vzorků zahušťovaných odparem. Vzorky zahuštěné vlákninou o koncentraci 3,6 % jsou porovnatelné se vzorkem zahuštěným vakuovým odpařováním po dobu asi 40 min, u něhož bylo dosaženo refraktometrické sušiny až 17 %. Z toho plyne, že zahušťování přídavkem vlákniny chitosan může ušetřit značné množství energie i suroviny a přitom zajistit požadovanou stálost konzistence ovocných dřevných výrobků.

Seznam symbolů

$\dot{\gamma}$	smyková rychlost	(s ⁻¹)
μ_0	zdánlivá viskozita	(Pa.s)
K'	koeficient konzistence	(Pa.s ⁿ)
n	index toku	(-)
$\dot{\gamma}_{NN}$	smyková rychlost (korigovaná pro newtonské kapaliny)	(s ⁻¹)

Literatura

- HOUŠKA M., KÝHOS K., GRÉE R., STROHALM J., LANDFELD A., NOVOTNÁ P. (1998a): Reologické vlastnosti ovocných dřev při průběhu zahušťování odparem. Praha, VÚPP [Technická zpráva č. 3/360/98].
- HOUŠKA M., VALENTOVÁ H., NOVOTNÁ P., STROHALM J., ŠESTÁK J., POKORNÝ J. (1998b): Shear rates during oral and non-oral perception of viscosity of fluid foods. J. Texture Stud., (in press).
- STROHALM J., LANDFELD A., NOVOTNÁ P., HOUŠKA M. (1998): Reologické vlastnosti ovocné dřene při zahušťování vlákninou. Praha, VÚPP [Technická zpráva č. 5/360/98].
- ŠESTÁK J. a kol. (1980): Transportní a termodynamická data pro výpočet aparátů a strojního zařízení. Praha, FS ČVUT.

Došlo 7. 7. 1998

Kontaktní adresa:

Ing. Milan Houška, CSc., Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10-Hostivař, Česká republika, tel: + 420 2 70 23 31, fax: + 420 2 70 19 83, e-mail: houska@vuppp.cz

REVIEW

Bakteriolytické enzymy v ochraně potravin

Marija GOTTVALDOVÁ, Alexandra PROŠKOVÁ, Jiří KUČERA

Food Research Institute Prague, Prague, Czech Republic

Abstract

GOTTVALDOVÁ M., PROŠKOVÁ A., KUČERA J. (1998): **Bacteriolytic enzymes in food safety.** Czech J. Food Sci., 16: 195–201.

The application of bacteriolytic enzymes in food safety was reviewed from the point of view of the structure of bacterial cell-wall and enzyme-substrate interaction. The structure of bacterial cell-wall is briefly discussed and the point of possible attack shown. *Henn-egg* lysozyme is the enzyme most frequently used for food sanitation and, therefore, its way of action is discussed more profoundly. The sensitivity of Gram-positive bacteria to lysozyme action is explained on the base of enzyme-substrate interaction. The application of lysozyme for the bacterial infection in animal and fish is mentioned. The attention is also paid to the methods of lysozyme modification leading to the antibacterial spectrum broadenin.

food safety; antibacterial enzymes; lysozyme; lysozyme modification

Pro ochranu potravin proti mikrobiálnímu znehodnocení se používá, vedle všech metod fyzikální a chemické konzervace, stále ve větší míře fyzikálně enzymová (např. Pellegrini et al., 1992). Řada enzymů působí bakteriostaticky (Liu et al., 1995), pouze výjimečně však působí i baktericidně (Ellison, Giehl, 1991). Takovým enzymem s baktericidními účinky je např. laktoperoxidasa (Wit, 1995), která v přítomnosti peroxidu vodíku oxiduje životně důležité proteiny v mikrobiální buňce, nebo kombinace enzymů glukoso oxidasa a katalasa (Whitman, Rand, 1995). Použití těchto baktericidních enzymů má však značná omezení především v tom, že většinou jsou, zejména při dlouhodobém působení, schopny napadat i živočišné buňky, a proto nejsou dostatečně bezpečné pro uživatele takto konzervovaných potravin. K odstranění negativního účinku laktoperoxidasy se např. používá katalasa, která po provedené sterilaci odstraní přebytek peroxidu vodíku (Taran, 1995). I zde jsou však některá omezení.

Zcela bezpečnými enzymovými prostředky ochrany potravin jsou enzymy působící rozklad mikrobiální buněčné stěny, z nichž nejznámější je lysozym. V této rešerši se budeme zabývat pouze touto skupinou antimikrobiálních enzymů, protože jen ta může mít praktický význam.

Lysozym katalyzuje hydrolyzu strukturně důležité vazby v buněčné stěně a tak vede k její solubilizaci (Saltin, 1952). Lysozym je však pouze jedním (a nejznámějším) enzymem z celé skupiny bakteriolytických enzymů. Již Fleming (1922) a po něm další (např. Lieske, 1921; Gratia, Dath, 1924; Welsch, 1947) ukázali, že enzymy katalyzující rozklad buněčné stěny jsou v přírodě přinejmenším stejně častou obranou proti infekci, jako antibiotika.

Lytické enzymy se vyskytují nejen u živočichů, ale také u rostlin a mikroorganismů. Je známa skupina autolysinů, tj. enzymů hydrolyzujících vlastní buněčnou stěnu produkčního mikroorganismu a působících při jeho autolyze, virolyzinů, enzymů produkovaných bakteriemi pro hydrolyzu ochranných proteinů bakteriofágů a další. U mnoha patogenních a fytopatogenních organismů je lysozym a jemu podobné enzymy součástí mechanismu atakujícího buňky (Mushagian et al., 1996). Mechanismus účinku těchto enzymů byl podrobně popsán již v šedesátých letech, a přestože se jedná o skupinu enzymů s různým mechanismem účinku a náležejících do různých podtříd hydrolas (peptidasy, sacharidasy), jsou často označovány skupinovým názvem lysozym.

Struktura mikrobiální buněčné stěny a možnosti jejího útoku

Buněčná stěna je v podstatě rigidní útvar tvořený polyacetylhexosaminem a peptidovým řetězcem, který tvoří příčné vazby a zpevňuje strukturu buněčné stěny. Enzymy mohou napadat buď polyacetylhexosamin, nebo peptid. Polysacharidový řetězec je tvořen střídavě β -1,4-vázaným N-acetylglukosaminem (NAG) a N-acetyl-muraminovou kyselinou (NAM). Polypeptidový řetězec může u některých mikroorganismů substituovat všechny volné pozice v muraminové kyselině nebo pouze některé vazbou N-acetyl-muramyl-L-alaninu. V peptidovém řetězci jsou téměř vždy L- nebo D-alanin, D-glutamová kyselina a některá diaminokyselina, nejčastěji L-lysin, případně D,D- nebo L,L-diaminopimelová kyselina. U mnoha peptidů buněčné stěny byla stanovena primární struktura. Např. u *Staphylococcus aureus* je struktura NAM-L-ala-D-g-isoglutamyl-L-lys-D-ala. Bylo prokázáno, že tento nebo podobný NAM-tetrapeptid je umístěn v příčných vazbách buněčné stěny všech mikroorganismů. Prekurzorem je zde nukleotid – UDP-NAM-L-ala-D-glu-L-lys-D-ala-D-ala. Poslední aminokyselina tohoto pentapeptidu se odděluje při transpeptidaci, která je poslední reakcí syntézy buněčné stěny. Mezi tetrapeptidy vznikají křížové vazby, které dále zpevňují buněčnou stěnu. Tyto vazby vznikají mezi karboxyskupinou koncového D-alaninu a ϵ -aminoskupinou L-lysinu a to buď přímo, nebo prostřednictvím dalšího peptidu. Délka tohoto peptidového řetězce je u různých mikroorganismů různá: např. pentaglycin u *Staphylococcus aureus*, tri-L-Ala-L-Thr u *Micrococcus roseus*, mono L-Ala u *Arthrobacter crystallopoietes*. Výjimečně se v peptidovém řetězci může vyskytovat i L-ornithin. Pevnost buněčné stěny je obvykle dána četností příčných vazeb a napadnutelnost různými bakteriolytickými enzymy je dána jejich četností i strukturou. Je několik druhů bakteriolytických enzymů, které se liší místem útoku.

Polysacharidová část peptidoglykanu bakteriální buněčné stěny může být napadána endoacetylmuramidasy nebo endoacetylglukosaminidasy, pokud vlastnosti buněčné stěny, jejich substituce, četnost příčných vazeb apod. splňuje požadavky jejich substrátové specifity. Mezi glykosidasy zaujímá až dosud nejvýznamnější postavení acetylmuraminidasa, lyzující buněčné stěny nebo je solubilizující u většiny gram pozitivních bakterií, jako jsou *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium* apod. Zdá se proto, že struktura polysacharidové části je u různých bakterií velmi podobná. Na druhé straně působení endopeptidas je značně specifické. To je způsobeno velkou variabilitou polypeptidů tvořících příčné vazby.

Mezi endoacetylmuraminidasy způsobující lyzi bakteriální stěny patří nejen klasický vaječný lysozym, ale také ostatní lysozomy živočišného nebo rostlinného původu (např. Lynn, 1989), dále enzym F1 *Streptomyces albus* (Dierickx, Ghuyssen, 1962), autolysin *Streptococcus faecalis* (Conover et al., 1966), nebo lysozym T2 řádu (Katz, 1964). Mezi endoacetylglukosaminidasy pa-

tří např. muralysin (Barkulis et al., 1964) nebo lysostaphin (Browder et al., 1965). Také některé exoacetylglukosaminidasy působí lyzi bakteriální buněčné stěny. Takovým enzymem je např. exoacetylglukosaminidasa vepřové epididymis (Finlay, Levy, 1960) nebo autolytický enzym *E. coli* (Pelzer, 1963).

Z endopeptidas štěpících peptidoglykany buněčné stěny jsou to např. endopeptidasa *Streptomyces albus* (Ghuyssen et al., 1966) štěpící vazby D-Ala-L-Lys a D-Ala-L-Ala nebo endopeptidasa *Myxobacterium* sp. (Ensign, Wolfe, 1966), štěpící vazby Gly-Gly a D-Ala-Gly. Překvapivě i některé exopeptidasy, jako např. L-ala- a gly-aminopeptidasa *Streptomyces albus* (Munoz et al., 1966) nebo D-ala karboxypeptidasa *E. coli* (Leutgeb, Weidel, 1963), mohou vyvolat lyzi buněčné stěny bakterií.

Lytické spektrum enzymů štěpících peptidovou složku může být využito taxonomicky vzhledem k vysoké specifitě. K vlastní ochraně potravin před mikrobiálním kažením však může sloužit pouze společně se skupinou sacharidas štěpících sacharidovou část peptidoglykanů. Různý stupeň křížových vazeb vysvětluje také poměrně značné rozdíly mezi citlivostí jednotlivých mikroorganismů k působení lytických enzymů. Na tomto místě je však třeba zdůraznit, že pro každý typ buněčné stěny existuje v přírodě lytický systém. Dokladem toho je mj. skutečnost, že se nikde v přírodě nehromadí biologicky neodbouratelné buněčné stěny mikroorganismů. Tento fakt dává pak naději na co neširší využití lytických enzymů v ochraně potravin.

Enzymová ochrana potravin vaječným lysozymem

Vaječný lysozym je nejsnáze dostupným enzymem pro enzymovou ochranu potravin. Je vyráběn z vaječných bílků technologií, která neznehodnotí bílky a dovoluje tak jejich další potravinářské využití (např. Banka et al., 1993). Kromě toho je možné získat lysozym ze skořápek technologicky použitých vajec (Li et al., 1994). Lysozym však může být získán i z dalších odpadů, např. odpadů vznikajících při zpracování hřebenačky (Myrnes, Johansen, 1994). To vše činí lysozym mimořádně zajímavým lytickým enzymem, jehož potravinářské využití stále narůstá.

Řada studií ukazuje, že lysozym má antibakteriální účinky proti celé řadě mikroorganismů napadajících potraviny, včetně *Bacillus cereus*, *E. coli*, *Salmonella typhosa*, *Shigella dysenteriae*, *Proteus vulgaris* a *Pseudomonas aeruginosa* (Chandler et al., 1984), dále pak *Listeria monocytogenes* (Hughes et al., 1989) a některé kmeny *Clostridium botulinum* (Hughes, Johnson, 1987). Také termofilní bakterie *Bacillus thermosaccharolyticum* je velice citlivá k lysozymu, podobně jako *Clostridium tyrobutyricum* (Hughes, Johnson, 1987). I v těch případech, kdy lysozym nepůsobí přímo baktericidně, snižuje termotoleranci mikroorganismů a zvyšuje tak účinnost tepelné konzervace (Scott, Bernard, 1985).

Antivirový účinek vaječného bílku je v poslední době přičítán spíše ovomucinu než lysozymu nebo ovomukoidu (Ts u g e et al., 1996). Vaječný bílek však působí inhibičně na řadu významných virů, jako je mj. virus chřipky IV.

Lysozym je používán ke konzervaci čerstvého ovoce a zeleniny, tofu, mořských produktů, masa a masných výrobků, bramborových salátů, sýrů (Eidam, Gouda apod.) a řady dalších potravinářských výrobků (C u n n i n g h a m et al., 1991). Je rovněž používán k přípravě kvasničných extraktů, kde zajišťuje dobrou kvalitu a výraznou chuť (C u n n i n g h a m et al., 1991).

Hlavní uplatnění lysozymu v potravinářství je při zpracování mléka (např. R i b e i r o, C a r m i n a t i, 1996), výrobě vína (např. B i s s o n, B u t z k e, 1996) a výrobě masných výrobků (např. L i u et al., 1995).

Mléko obsahuje v malé koncentraci vlastní lysozym, který však nestačí pro ochranu proti infekci během zpracování, tím méně ve výrobě mléčných výrobků.

Lysozym je účinným prostředkem proti *Listeria monocytogenes* v mléce při výrobě sýrů (C a r m i n a t i, C a r i n i, 1989). Testováno bylo mléko s různými koncentracemi lysozymu (0 až 1000 ppm) s tepelným opracováním před přidávkem lysozymu nebo po něm, acidifikované kyselínou citronovou nebo mléčnou. Samotný lysozym aplikovaný 24 h po inokulaci *L. monocytogenes* byl účinný pouze u dvou ze sledovaných kmenů. Působení není tedy zcela obecné a před každým použitím lysozymu je nutné provést test citlivosti. Použití lysozymu však ve všech případech prodlužuje lag fázi při růstu mikroorganismu (J o h a n s e n et al., 1994) na 60–70 dní, což je dostatečná doba pro přípravu většiny sýrů. Pokud není počáteční infekce mléka příliš masivní, lze použitím lysozymu dosáhnout velmi dobrých výsledků. Tak bylo s úspěchem použito lysozymu při výrobě sýrů typu Gouda (B e s t e r, L o m b a r d, 1990) a Grana (F a n t u z z i et al., 1996). Také při konzervaci kozího mléka se osvědčil přídavek lysozymu (P i e c z o n k a, B u r e k, 1994).

I v těch případech, kdy lysozym sám není dostatečně účinný, zvyšuje citlivost mikroorganismů k teplu a tím i účinek tepelné sterilace (K i h m et al., 1994).

Evropská unie svým rozhodnutím č. 96/657/EC podpořila italské výzkumy použití lysozymu při výrobě vína (E u, 1996). Rovněž v Německu pokračují práce na použití lysozymu pro inhibici bakterií mléčného kysání při výrobě vína (D i e l, F i s c h e r, 1997).

Byl srovnáván účinek různých konzervačních prostředků a jejich kombinace na prodloužení trvanlivosti šunky (K i m et al., 1991). Nejvyšší trvanlivost bylo dosaženo při kombinaci polyfosfátu s lysozymem (0,2 % polyfosfátu a 100 ppm lysozymu). Barva ani pH nebylo ovlivněno během celého skladování. Těžké dusíkaté látky byly v šunce konzervované touto směsí velmi nízké po celou dobu skladování.

Ke stejným výsledkům vedlo i sledování vlivu kombinace polyfosfátu a lysozymu na trvanlivost párků (L e e et al., 1991). V tomto případě byla nejspěšnější dávka

500 ppm lysozymu a 1 % polyfosfátu. Zatímco samotný lysozym nepůsobí lyzi, je uvedená kombinace účinná i pro lyzi nerostoucích bakterií. Také čínské párky jsou stabilizovány stejným způsobem (L i u et al., 1995).

Byl také studován vliv různých přísad, aminokyselin, glukosy, koření a dalších na působení lysozymu při konzervaci masných výrobků (P r o c t o r, 1992). Ukázalo se, že aspartam a karageenan snižují účinnost lysozymu o 84 a 67 %. Naopak kyselina boritá, chlorid sodný, benzoan sodný, etanol a glycerol zesilují účinek lysozymu. V případě tří základních patogenů, které se mohou vyskytovat v masných výrobcích, tj. *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* a *Staphylococcus aureus*, byl lysozym v kombinaci s nisinem účinný proti *L. monocytogenes*, a to při 9,27 mg/ml lysozymu a 212,8 mg/ml nisinu. Stejná koncentrace v přítomnosti nebo nepřítomnosti EDTA je účinná i proti *S. aureus*.

L. monocytogenes může být přítomna i v rybách a výrobcích z ryb. Lysozym a EDTA opět prodlužují skladovací dobu a snižují výskyt *L. monocytogenes*. Na přirozenou mikroflóru však nemají vliv (W a n g, S h e l e f, 1992).

Ne vždy je lysozym účinný v masném průmyslu. Např. při aplikaci lysozymu a EDTA na kuřecí maso masivně napadené salmonelou bylo jednoznačně prokázáno, že hlavní efekt má EDTA, zatímco lysozym jen nepatrně zvyšuje účinek této látky (S a m u e l s o n et al., 1985). V tomto případě však snížení účinku lysozymu bylo pravděpodobně způsobeno příliš silnou infekcí, takže růst bakterie byl rychlejší než působení lysozymu.

Lysozym se také osvědčil při konzervaci džusů (L i n, W a n g, 1994). V tomto případě se lysozym získaný z odpadních skořápek vajec přidává do připravených džusů. Sledováním účinků se ukázalo, že lysozym je v některých případech inhibován a že tedy konečný efekt závisí do značné míry na druhu ovoce.

Jak již bylo uvedeno, lysozym zvyšuje citlivost řady mikroorganismů k tepelné inaktivaci. Toho bylo využito k odstranění *Salmonella enteritidis* z vajec. Přítomnost lysozymu ve vejcích způsobuje, že tento mikroorganismus je inaktivován již při teplotách 55–57 °C, při kterých nedochází ke koagulaci vajec (H o u et al., 1996). Vejce jsou zahřívána na 55–57 °C po dobu 1–3 h v horkém vzduchu nebo po dobu 10–25 min ve vodní lázni. Zahřívání ve vodní lázni po 25 min snižuje obsah o tři řády, zatímco zahřívání 3 h v horkém vzduchu o pět řádů.

Enzymová ochrana hospodářských zvířat a ryb před infekcí

Lysozym svou antimikrobiální aktivitou může působit také terapeuticky. Známý je např. účinek lysozymu na *Streptococcus pneumoniae* (C o o n r o d et al., 1991), který je významným respiračním patogenem. Lysozym *in vitro* působí vyčištění pneumokokové suspenze a uvolňuje z buněčné stěny fragment obsahující cholin. Elektronový mikroskop ukázal značné poškození buněčné stěny a rychlou lyzi mikroorganismu. Ukazuje se, že lyse je pouze iniciová-

na lysozymem a dále pokračuje působením vlastního pneumokokového autolysinu N-acetylmuramoyl-L-alanin amidasou, protože tato autolýza je inhibována specifickými amidasovými inhibitory, jako jsou etanolamin, fosforylcholin apod.

Lysozym různých živočišných druhů se ve svých účincích poněkud liší. To se projevuje zejména v působení těchto enzymů při ochraně zvířat před některými chorobami. Tak např. lysozym izolovaný z ledviny pstruha působí proti mastitidě, zatímco vaječný lysozym má v tomto případě jen malý účinek (Grinde, 1989).

Infekce ryb v rybnících gram-negativní bakterií *Edwardsiella tarda* je poměrně častá. Lysozym vázaný kovalentně na galaktomannan nebo lysozym substituovaný palmitovou kyselinou, podáváný infikovaným kaprům (*Cyprinus carpio*) po osm dní, chrání ryby před uhynutím. Zatímco kontrolní ryby uhynuly během tří dní, přežívaly ryby léčené lysozymem vázaným na galaktomannan z 30 % a ryby léčené palmitoyl-lysozymem z 20 % (Nakamura et al., 1992). Ryby, kterým byl konjugát lysozymu s galaktomannanem podán před infekcí, přežívaly ze 40 %. To ukazuje, že lysozym a ostatní lytické enzymy mohou být využity také terapeuticky.

Modifikace lysozymu vedoucí ke změně antibakteriálních vlastností

Výzkum lysozymu a aprotininu (inhibitoru proteínas sloužícího pravděpodobně jako přirozená ochrana živočišné tkáně) ukázal, že obě bílkoviny mohou působit lysi jak gramnegativních, tak i grampozitivních bakterií, a to i v nepřítomnosti jiných faktorů, např. EDTA. Chemická denaturace, např. dithiothreitem, nevede k úplné ztrátě antibakteriálních vlastností, což má samozřejmě vliv na praktické využití těchto inhibitorů růstu bakterií (Pellegrini et al., 1992). Bylo tak prokázáno, že baktericidní účinky obou bílkovin nejsou dány jen jejich hydrolytickou aktivitou, ale také jejich kationickými a hydrofobními vlastnostmi (Pellegrini et al., 1992). Z těchto výsledků vyplývá i několikrát pozorovaná zvýšená aktivita hydrofobizovaného lysozymu proti gramnegativním bakteriím.

Podrobnou studii (Ibrahim et al., 1996a) bylo prokázáno, že lysozym po zahřátí na 80 °C při pH 7,0 si zachová pouze 50 % enzymové aktivity, ale současně se 14krát zvýší hydrofobicita povrchu. Vlivem této zvýšené hydrofobicity se významně zvýší vazebná kapacita pro vazbu na peptidoglykan *Staphylococcus aureus* a lipopolysacharidy *Escherichia coli*, což vede k značnému posílení baktericidního účinku na gramnegativní bakterie. Výsledky jednoznačně prokázaly, že tato změna antibakteriálního spektra lysozymu je výsledkem zvýšené vazby enzymu k povrchu bakterií.

Toto zjištění vysvětluje již dříve popsanou skutečnost, že substitucí lysozymu palmitovou, myristovou nebo stearovou kyselinou lze výrazně zvýšit baktericidní účinek proti *Escherichia coli* (Ibrahim et al., 1993). Účinek jednotlivých kyselin odpovídá délce hydrofobního (alifatického řetězce) a tedy i hydrofobicitě.

K podrobnějšímu testování bylo použito afinitních konstant pro vazby lysozymu na imobilizovaný lipopolysacharid *E. coli*. Souvislost mezi vazbou enzymu na bakteriální stěnu a jeho lytickým účinkem byla jednoznačně prokázána. Pro zesílení účinku je rozhodující afinita lysozymu k bakteriální stěně. Hydrofobicita je jen jednou z možností zvýšení této afinity. Nezávislým potvrzením tohoto vztahu je výrazný efekt vazby lysozymu s lektinem. Takto vzniklý konjugát vykazuje bakteriostatické účinky na gramnegativní bakterie, ačkoliv se hydrofobicita prakticky nemění (Gottvaldová et al., 1998).

Také substituce lysozymu kovalentní vazbou perilaldehydu (Ibrahim et al., 1994) prostřednictvím tvorby Schiffových bází s následnou redukcí borohydridem vedla k preparátu téměř nezměněné rozpustlivosti ve vodě se slabě klesajícím stupněm lyze *Micrococcus lysodeiaticus* se zvyšujícím se stupněm substituce, zato se stoupajícím stupněm lyze *Escherichia coli*. To ukazuje na skutečnost, že modifikace lysozymu může vést k vývoji nových prostředků ochrany potravin, případně i nových farmaceutik konjugací lysozymu s dalšími antibakteriálními látkami.

Z tohoto důvodu byla také podrobně sledována stabilita lysozymu v kombinaci s jinými antimikrobiálními látkami (Yang, Cunningham, 1993). Byl sledován vliv pH, přítomnosti solí a dalších faktorů na stabilitu lysozymu v přítomnosti butylovaného hydroxytoluenu, nitrátu a dalších konzervačních látek. Ukázalo se, že v neutrálním prostředí je stabilita velmi dobrá, zatímco v kyselém prostředí lytická schopnost lysozymu v přítomnosti těchto látek klesá. Podobný efekt má také kombinace lysozymu s ampicilinem a β -lysinem (A Sensi, Fierer, 1991). Naproti tomu nedochází k synergismu mezi lysozymem a tetracyklinovými antibiotiky nebo chloramfenikolem (A Sensi, Fierer, 1991). Lysozym lze tedy kombinovat s dalšími antimikrobiálními látkami. Kromě toho také některé další nízkomolekulární látky, např. glycin, zvyšují účinek lysozymu (Ibrahim et al., 1996b).

Jiným způsobem hydrofobizace může být vazba hydrofobních peptidů, které je možné získat např. hydrolyzou některých bílkovin pepsinem nebo chymotrypsinem. Tak byl na lysozym navázán hydrofobní peptid Phe-Phe-Val-Ala-Pro, který představuje rozvinutou β -strukturu a tedy má délku hydrofobního řetězce přibližně stejnou jako kyselina palmitová (Ibrahim et al., 1992). Takto připravený derivát lysozymu byl testován na antibakteriální aktivitu proti *Escherichia coli* jako reprezentantu gramnegativních bakterií. Bylo prokázáno, že působením takto modifikovaného lysozymu dochází až k 50% lyzi *E. coli*.

Za způsob modifikace vlastností lysozymu lze považovat také konjugáty lysozymu s polymixinem nebo EDTA (Dean, Ward, 1992; Prošková et al., 1997). Lytická účinnost takových konjugátů je dostatečně silná i k preparativnímu využití pro přípravu intracelulárních produktů gramnegativní bakterie *Escherichia coli*. Ukázalo se, že lysozym v kombinaci s EDTA má lepší účinek při extrakci intracelulárních bílkovin než působení ultrazvuku (Dean,

Ward, 1992). K dosažení tohoto efektu bylo nutné použít dávku 100–800 mg/ml EDTA a 25–50 mg/ml lysozymu.

Kromě nízkomolekulárních antimikrobiálních látek byly studovány také konzervační účinky směsi lysozymu s některými dalšími antimikrobiálními proteiny. Významná je z tohoto hlediska zejména studie směsi lysozymu a laktoferrinu (Ellison, Giehl, 1991). Přestože mechanismus antimikrobiálního působení laktoferrinu není plně objasněn je zřejmé, že ovlivňuje strukturu vnější membrány, zejména gramnegativních bakterií. To je právě místo, které způsobuje nižší citlivost těchto bakterií k lysozymu. Společně obě antimikrobiální bílkoviny působí baktericidně na *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhimurium* a *Escherichia coli*. Působení je blokováno vysokou koncentrací vápníku a je závislé na dávce obou proteinů. Ukazuje se, že musí být přímý kontakt buněčné stěny s laktoferrinem a při působení dochází k přechodné vazbě laktoferrinu na buněčnou stěnu.

Další možností zvýšení účinku lysozymu a rozšíření jeho antibakteriálního spektra je jeho konjugace s polysacharidy. Ukazuje se, že vazbou lysozymu na polysacharidy, např. maillardovou reakcí, vzniká konjugát s modifikovanými antimikrobiálními vlastnostmi. Konjugát lysozymu s galaktomannanem má nejen vynikající emulgační vlastnosti, ale je současně i vysoce účinným antimikrobiálním prostředkem působícím i na gramnegativní bakterie (Nakamura et al., 1992). Stejně účinky měl i konjugát lysozymu s mannanem (Kato, 1996). V tomto případě byl polymannosyl-lysozym připraven také metodami genetického inženýrství.

Podobně byl prokázán účinek konjugátu lysozymu s dextranem (Nakamura et al., 1990) nebo lysozymu s iminodiacyldextranem (Prošková et al., 1997) na gramnegativní bakterie.

Některé látky naopak inhibují aktivitu lysozymu. To platí především o zeleninových šťávách, které zvyšují tepelnou odolnost mikroorganismů včetně *Clostridium botulinum* v přítomnosti lysozymu (Stringer, Peck, 1996).

Literatura

ASENSI V., FIERER J. (1991): Synergistic effect of human lysozyme plus ampicillin or beta-lysin on the killing of *Listeria monocytogenes*. *J. Infect. Dis.*, 163: 574–578.

BANKA L., PEROVIC S., BECAREVIC A. (1993): Lysozyme isolation from hen egg-white on Fractogel TSK CM-650. *Lebensm. Wiss. Techn.*, 26: 76–78.

BARKULIS S. S., SMITH C., BOLTRALIK J. J., HEYMANN H. J. (1964): Structure of streptococcal cell walls. IV. Purification and properties of streptococcal phage muralysin. *Biol. Chem.*, 239: 4027.

BESTER B. H., LOMBARD S. H., (1990): Influence of lysozyme on selected bacteria associated with Gouda cheese. *J. Food Protect.*, 53: 306–311.

BISSON L. F., BUTZKE C. E. (1996): Technical enzymes for wine production. *Agro Food Industry Hi Tech*, 7 (3): 11–14.

BROWDER H. P., ZYGMUNT W. A., YOUNG J. R., TAVBORMINA P. A. (1965): Lysostaphin: enzymic mode of action. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 19: 383.

CARMINATI D., CARINI S. (1989): Antimicrobial activity of lysozyme against *Listeria monocytogenes* in milk. *Microbiol. Alim. Nutr.*, 7: 49–56.

CONOVER M. J., THOMPSON J. C., SHOSKMAN G. D. (1966): Doplnit název práce. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 23: 713.

COONROD J. D., VARBLE R., YONEDA K. (1991): Mechanism of killing of pneumococci by lysozyme. *J. Infect. Dis.*, 164: 527–532.

CUNNINGHAM F. E., PROCTOR V. A., GOETSCH S. J. (1991): Egg-white lysozyme as a food preservative: an overview. *World's Poultry Sci. J.*, 47: 141–163; 165, 167–169.

DEAN C. R., WARD O. P. (1992): The use of EDTA or polymyxin with lysozyme for the recovery of intracellular products from *Escherichia coli*. *Biotechnol. Tech.*, 6: 133–138.

DIEL B., FISCHER U. (1997): Threat or challenge? New winemaking methods. *Dtsch. Weinbau*, 8: 1: 26–29.

DIERICKX L., GHUYSEN J. M. (1962): *Biochim. Biophys. Acta*, 58: 7.

ELLISON R. T. III., GIEHL T. J. (1991): Killing of gram-negative bacteria by lactoferrin and lysozyme. *J. Clin. Invest.*, 88: 1080–1091.

ELLISON R. T. III., GIEHL, T. J. (1991): Killing of gram-negative bacteria by lactoferrin and lysozyme. *J. Clin. Invest.*, 88: 1080–1091.

ENSIGN J. C., WOLFE R. S. (1966): Characterization of a small proteolytic enzyme which lyses bacterial cell wall. *J. Bacteriol.*, 91: 524.

European Community: Commission Decision 96/657/EC of 12 November 1996. *Off. J. Eur. Commun.*, 39 (L299): 29–30.

FANTUZZI V., BERTEZZOLO C., ZAPPAROLI G. A. (1996): Technological innovations in Grana cheesemaking. *Latte*, 6: 124–129.

FINDLAY J., LEVY S. A. (1960): Purification of β -N-acetylglucosaminidase from the pig epididymis. *Biochem. J.*, 77: 170.

FLEMING A. (1922): *Proc. Roy. Soc. London, Ser. B*, 93: 306.

GHUYSEN J. M., PETIT J. F., MUNOZ E., KATO K. (1966): Doplnit název práce. *Fed. Proc.*, 25: 410.

GOTTVALDOVÁ M., PROŠKOVÁ A., KUČERA J. (1998): Preparation and characterisation of a lectin-lysozyme conjugate. Dosud nepublikováno.

GRATIA A., DATH S. (1924): Bacterial antagonism and bacteriophage. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 91: 1442.

GRATIA A., DATH S. (1926): The centrifugation of bacteriophages. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 94: 1267.

GRINDE B. (1989): A lysozyme isolated from rainbow trout acts on mastitis pathogens. *FEMS Microbiol. Lett.*, 60: 179–182.

HOU H., SINGH R. K., MURIANA P. M., STADELMAN W. J. (1996): Pasteurization of intact shell eggs. *Food Microbiol.*, 13: 93–101.

HUGHEY V. L., JOHNSON E. A. (1987): Antimicrobial activity of lysozyme against bacteria involved in food spoilage and food-borne disease. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53: 2165–2170.

- HUGHEY V. L., WILGER, P. A., JOHNSON E. A. (1989): Antibacterial activity of hen egg white lysozyme against *Listeria monocytogenes* Scott A in foods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55: 631–638.
- CHANDER H., LATA K., BATISH V. K., BHATIA K. L. (1984): Antibacterial activity of lysozyme against some common food poisoning organisms. *Arch. Lebensmit.-Hyg.*, 35: 87–88.
- IBRAHIM H. R., HIGASHIGUCHI S., KOKETSU M., JUNEJA L. R., MUJO KIM, YAMAMOTO T., SUGIMOTO Y., AOKI T. (1996a): Partially unfolded lysozyme at neutral pH agglutinates and kills Gram-negative and Gram-positive bacteria through membrane damage mechanism. *J. Agr. Food Chem.*, 44: 3799–3806.
- IBRAHIM H. R., HIGASHIGUCHI S., SUGIMOTO Y., AOKI T. (1996b): Antimicrobial synergism of partially-denatured lysozyme with glycine: effect of sucrose and sodium chloride. *Food Res. Int.*, 29: 771–777.
- IBRAHIM H. R., KOBAYASHI K., KATO A. (1993): Length of hydrocarbon chain and antimicrobial action to Gram-negative bacteria of fatty acylated lysozyme. *J. Agr. Food Chem.*, 41: 1164–1168.
- IBRAHIM H. R., HATTA H., FUJIKI M., KIM M., YAMAMOTO T. (1994): Enhanced antimicrobial action of lysozyme against gram-negative and gram-positive bacteria due to modification with perillaldehyde. *J. Agr. Food Chem.*, 42: 1813–1817.
- IBRAHIM, H. R., YAMADA M., KOBAYASHI K., KATO, A. (1992): Bactericidal action of lysozyme against gram-negative bacteria due to insertion of a hydrophobic pentapeptide into its C-terminus. *Biosci., Biotechnol., Biochem.*, 56: 1361–1363.
- JOHANSEN C., GRAM L., MEYER A. S. (1994): The combined inhibitory effect of lysozyme and low pH on growth of *Listeria monocytogenes*. *J. Food Protect.*, 57: 561–566.
- KATO A. (1996): Functional protein-polysaccharide conjugates. *Comments Agr. Food Chem.*, 3: 139–153.
- KATZ W. (1964): Comparison of particle-bound and free T2 lysozyme and crystalization of both enzymes. *Z. Naturforsch. (B)*, 19, 129–133.
- KIHM D. J., LEYER G. J., GIL HWAN A. N., JOHNSON E. A. (1994): Sensitization of heat-treated *Listeria monocytogenes* to added lysozyme in milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60: 3854–3861.
- KIM Y. B., LEE S. K., KIM K. H., YOO I. J. (1991): Effect of addition of lysozyme and sodium ultraphosphate on the shelf-life of pressed ham. *Korean J. Anim. Sci.*, 33: 176–184.
- LEE S. K., KIM K. H., KIM K. S., KIM Y. B., YOO I. J. (1991): Effect of lysozyme and sodium ultraphosphate on the shelf-life of Vienna sausage. *Korean J. Anim. Sci.*, 33: 78–84.
- LEUTGEB W., WEIDEL W. (1963): *Doplnit název práce. Z. Naturforsch. (B)*, 18, 1965.
- LI GY, ZHANG SH, GUO XD, LIU ZZ (1994): Extraction of lysozyme from residual egg white on shell. *Food Sci., China*, 3: 24–27.
- LIESKE R. (1921): In: *Morphologie und Biologie der Strahlenpelze*. Leipzig, Borntraeger.
- LIN QL, WANG DA (1994): Application of lysozyme in beverages. *Food Sci., China*, 3: 37–40.
- LIU M. H., CHANG H. S., SHEEN H. S., HUNG L. T., SHIAU S. P. (1995): Preservative effect of egg white lysozyme on Chinese-style sausage. *J. Chin. Soc. Anim. Sci.*, 24: 95–103.
- LYNN K. R. (1989): A lysozyme from the fruit of *Actinidia chinensis*. *Phytochemistry*, 28: 2267–2268.
- MUNOZ E., GHUYSEN J. M., LEYH-BOUILLE M., PETIT J. F., KEYMANN H., BRICAS E., LEFRANCIER P. (1966): Structural variation in bacterial cell wall peptidoglycans studied with Streptomyces F1 endo-N-acetylmuraminidase. *Biochemistry*, 5: 3748.
- MUSHEGIAN A. R., FULLNER K. J., KOONIN E. V., NESTER E. W. (1996): A family of lysozyme-like virulence factors in bacterial pathogens of plants and animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93: 7321–7326.
- MYRNES B., JOHANSEN A. (1994): Recovery of lysozyme from scallop waste. *Prep. Biochem*, 24: 69–80.
- NAKAMURA S., GOHYA Y., LOSSO J.N., NAKAI S., KATO A. (1996): Protective effect of lysozyme-galactomannan or lysozyme-palmitic acid conjugates against *Edwardsiella tarda* infection in carp, *Cyprinus carpio* L. *FEBS Lett.*, 383: 251–254.
- NAKAMURA S., KATO A., KOBAYASHI K. (1990): Novel bifunctional lysozyme-dextran conjugate that acts on both gram-negative and gram-positive bacteria. *Agr. Biol. Chem.*, 54: 3057–3059.
- NAKAMURA S., KATO A., KOBAYASHI K. (1996): Bifunctional lysozyme-galactomannan conjugate having excellent emulsifying properties and bactericidal effect. *J. Agric. Fodd Chem.*, 40: 735–739.
- PELLEGRINI A., THOMAS U., FELLEBERG R. von, WILD P. (1992): Bactericidal activities of lysozyme and aprotinin against gram-negative and gram-positive bacteria related to their basic character. *J. Appl. Bacteriol.*, 72: 180–187.
- PELZER H. (1963): Structure of two mucopeptides released from *Escherichia coli* B cell walls by lysozyme. *Z. Naturforsch. (B)*, 18: 950.
- PIECZONKA W, BUREK E. (1994): Stability of goats' milk with added lysozyme. *Przemysl Spozycwczy*, 48: 112–114, 117.
- PROCTOR V. A. (1992): Stability of lysozyme in various food products and preservative effect in meat. *Dissert. Abstr. Int. B*, 52: 4538.
- PROŠKOVÁ A., GOTTVÁLDOVÁ M., KUČERA J. (1997): Preparation and characterisation of a dextran-lysozyme conjugate. *Potrav. Vědy*, 15: 321–328.
- RIBEIRO S. H. S., CARMINATI D. (1996): Survival of *Listeria monocytogenes* in fermented milk and yoghurt: effect of pH, lysozyme content and storage at 4 degree. *Sci. Aliments*, 16: 175–185.
- SALTON M. R. J. (1952): Cell wall of *Micrococcus lysodeikticus* as the substrate of lysozyme. *Nature*, 170: 746–747.
- SAMUELSON K. J., RUPNOW J. H., FRONING G. W. (1985): The effect of lysozyme and ethylene-diaminetetraacetic acid on *Salmonella* on broiler parts. *Poult. Sci.*, 64: 1488–1490.
- SCOTT V. N., BERNARD D. T. (1985): The effect of lysozyme on the apparent heat resistance of nonproteolytic type B *Clostridium botulinum*. *J. Food Saf.*, 7: 145–154.
- STRINGER S. C., PECK M. W. (1996): Vegetable juice aids the recovery of heated spores of non-proteolytic *Clostridium botulinum*. *Lett. Appl. Microbiol.*, 23: 407–411.

TARHAN L. (1995): Use of immobilised catalase to remove H_2O_2 used in the sterilisation of milk. *Process Biochem.*, 30: 623–628.

TSUGE Y., SHIMOYAMADA M., WATANABE K. (1996): Binding of egg white proteins to viruses. *Biosci., Biotechnol., Biochem.*, 60: 1503–1504.

WANG C., SHELEF L. A. (1992): Behavior of *Listeria monocytogenes* and the spoilage microflora in fresh cod fish treated with lysozyme and EDTA. *Food Microbiol.*, 9: 207–213.

WELSCH M. (1947): Bacteriolytic activity of certain actinomycetins on living *Staphylococcus aureus* and *Bacillus megaterium*. *Rev. Belge Pathol. Med. Exp.*, 28: 1.

WHACHUN Y., RAND A. G. (1995): Antimicrobial disc susceptibility tests for glucose oxidase/catalase system. *Food Biotechnol.*, 4: 253–257.

WIT J. N. de (1995): Structure, functions and applications of lactoperoxidase in natural antimicrobial systems. *Food Ingrid. Eur. Conf. Proc.*: 62–67 (ISBN 90-73220-15-7).

YANG T. S., CUNNINGHAM F. E. (1993): Stability of egg white lysozyme in combination with other antimicrobial substances. *J. Food Prot.*, 56: 153–156.

Kontaktní adresa:

RNDr. Marija Gottvaldová, Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 37 Praha 10-Hostivař, Česká republika, tel.: + 420 70 23 31, fax: + 420 2 70 19 83, e-mail: j.kucera@vupp.cz

OZNÁMENÍ

Stipendium OECD pro stáže na zahraničních výzkumných pracovištích

V rámci kooperativního programu OECD „Využití zdrojů pro trvale udržitelný zemědělský systém“ vypisuje komise pro téma 2 „suroviny živočišného původu“ konkurz na stáže v laboratořích členských zemí OECD.

Do konkurzu se může přihlásit každý, kdo splňuje podmínky stanovené komisí, tj. má vědeckou hodnost nejméně CSc., věk do padesáti let, navrhne vhodné téma spolupráce a předloží souhlas pracoviště, které hodlá navštívit (letter of acceptance).

Výběrovým hlediskem je kvalifikace žadatele, charakter a kvalita navrhovaného tématu a odborná úroveň navštíveného pracoviště.

Podrobnosti a přihlášky do konkurzu lze získat na adrese:

Ing. Jiří Kučera, CSc., Výzkumný ústav potravinářský Praha
Radiová 7, 102 31 Praha 10-Hostivař
tel.: 02 70 23 31 linka 364, fax: 02 70 19 83
e-mail: j.kucera@vupp.cz

KONFERENCE A SEMINÁŘE

XXIX. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin

Ve dnech 25.–27. 5. 1998 se ve Skalském dvoře konalo XXIX. symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin, které každoročně pořádá Odborná skupina pro potravinářskou a agrikulturní chemii České společnosti chemické. Akce se zúčastnilo 100 odborníků z České republiky a Slovenska a bylo na ní prezentováno 31 ústních sdělení a 40 posterů.

Úvodní blok referátů byl zaměřen na zdravotní bezpečnost potravin. V současné době je známo asi 200 látek, které prostřednictvím potravin mohou vyvolat onemocnění člověka. Většina onemocnění z potravin je spojována především s bakteriálními a parazitárními původci, ale mohou je působit i rezidua chemických látek, mykotoxiny, biotoxiny aj. Podkladem pro hodnocení zdravotních rizik je sledování obsahu těchto látek v potravinových komoditách. Vedle toxických prvků, dusičnanů, PCB a organochlorových pesticidů se nově sledují i moderní pesticidy, polycyklické aromatické uhlovodíky, estery kyseliny ftalové, některé mykotoxiny a přírodní toxiny. Zjištěné údaje byly komentovány ve vztahu k novým prováděcím vyhláškám k Zákonu o potravinách. V případě chemických rizik i mikrobiální kontaminace byly diskutovány jejich vznik a eliminace při výrobě a skladování potravin. Podle Zákona č. 110 z roku 1997 je výrobce povinen zajistit zdravotně nezávadnou produkci potravin mimo jiné zavedením preventivního systému kontroly výroby – systému kritických bodů (HACCP). Byly diskutovány praktické zkušenosti při zavádění tohoto systému v podnicích. Na příkladu bylo dokumentováno i propojení dvou systémů řízení jakosti – HACCP a ISO 9002.

Další skupina referátů se zabývala nutričním hodnocením potravin rostlinného původu. Bylo např. referováno o nových odrůdách obilnin a jejich uplatnění ve funkčních potravinách, o studiu variability zdravotně preventivních složek zrna jarního ječmene, o hodnocení kvality brambor z ekologické a konvenční produkce, o významu luštění v lidské výživě, o komplexním využití obilnin jako obnovitelného zdroje energie a o nových směrech hodnocení jakosti potravinářské pšenice. Zajímavý byl příspěvek upozorňující na nový pohled na úlohu glukosinolatů v lidské výživě vzhledem ke zjištěným antikarcinogenním vlastnostem.

Několik sdělení bylo věnováno problematice aditivních látek. Jednalo se o komplexní využití látek z černého jeřábu a o studium antioxidační aktivity antokyaninů (z bezu chebdi, černého rybízu, vína) a flavonoidů. K prodloužení údržnosti lahůdkářských výrobků byl s úspěchem použit přirozený inhibitor mikrobiálního růstu – laktocid (pufrovaný systém laktát–acetát).

Z prací zabývajících se interakcemi složek potravin byly prezentovány výsledky sledování modelové reakce allylisothiocyanátu s cysteinem, degradace methioninu za podmínek simulujících kuchyňské zpracování zeleniny, inhibice oxidace askorbové kyseliny působením antokyaninů aj. Pozornost byla také věnována perspektivnímu balení potravin, při němž dochází k záměrné interakci obalu a potravin.

Řada referátů se zabývala novými technologiemi a charakterizací procesů sledováním různých parametrů. Jednalo se např. o maturografické sledování procesu kynutí amarantového těsta, o způsoby získávání potravinářské vlákniny, o izolaci vlákniny z brambor, o výrobu mléčné kvašených zeleninových šťáv. Byly uvedeny výsledky sledování vlivu řízené fermentace na složení aromatických látek macerátu z květů černého bezu a vypracování postupu extrakce hořkých látek ze sušené čekanky. Při sledování kombinovaného účinku vysokého tlaku a teploty bylo zjištěno, že vede k inaktivaci askospor termorezistentních plísní v ovocných výrobcích.

Oblasti dietních výrobků a dětské výživy se týkaly např. referáty o fortifikaci dětské mléčné výživy kyselinou listovou, o náhradě tuků energeticky méně vydatnými látkami a o cholesterolu v rostlinných olejích a margarínech.

Hlavní část programu byla zaměřena na metody hodnocení potravin z hlediska nutričního, sensorického a hygienického. Příspěvky se zabývaly analytickými aplikacemi chromatografických, spektrofotometrických, bioafinitních, senzorických, mikrobiologických a fyzikálních metod při analýze potravin. Prezentované práce se týkaly sledování jakosti pomerančových šťáv metodou HPLC a kapilární izotachografie, stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků, kyseliny propionové, tokoferolů, vitamínu B₁, kyseliny fytové a taurinu metodami HPLC, stanovení cholesterolu metodou GC, vypracování postupů frakcionace a charakterizace bílkovin pšenice, využití infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací pro klasifikaci vín, stanovení vody v pektinu metodou podle Karla Fishera, stanovení hemoglobinu a myoglobinu v mase metodou IMAC, určení typu tepelného ošetření mléka metodou ELISA, vývoje nových technik pro koncentraci a separaci patogenních bakterií z potravin aj. Zajímavé bylo seznámení s moderní

technikou přípravy vzorků – mikroextrakcí na tuhou fázi (SPME) – a její použití při analýze nealkoholických nápojů a stanovení reziduálního acetaldehydu v PET lahvích. NIR spektroskopie byla použita pro stanovení základního složení tavených sýrů a syrového mléka. Měření reologických vlastností sloužilo k hodnocení vlastností škrobových mazů a tavených sýrů. Příspěvky týkající se sensorického hodnocení se zabývaly např. metodikou ochutnávání tuhých a kapalných vzorků vzhledem k rozložení smyslových receptorů, korelaci sensorického a přístrojového hodnocení viskozity newtonských kapalin, určením korelace mezi chutí a obsahem sacharidů u vín, problematikou hodnocení kančího pachu u vepřového masa, hodnocením barvy ovocných jogurtů.

Pravidelnou součástí programu je diskuse o metodách sensorického hodnocení spojená s praktickým hodnocením některých potravinářských výrobků. V letošním roce byly hodnoceny vzorky cereálních tyčinek, cereálních snídaní a čajů. Během symposia se prezentovaly firmy Ekofrukt Slaný s. r. o. a Sipoch s. r. o. Praha.

Sborník souhrnů všech sdělení je dostupný ve VÚPP, Radiová 7, 102 31 Praha 10.

Jubilejní XXX. symposium je plánováno do Skalského dvora na dny 17.–19. 5. 1999.

Vlasta Fiedlerová, Marie Holasová (Praha)

INFORMACE

Mezinárodní spolupráce Výzkumného ústavu potravinářského Praha

Výzkumný ústav potravinářský Praha spolupracuje s ústavem TNO Nutrition and Food Research Institute v Zeistu v Nizozemsku. Spolupráce v současné době probíhá formou společného projektu označeného jako Q-Food. Projekt je zaměřen na přenesení zkušeností se zaváděním systému HACCP v zemích EU do podmínek ČR. Pro realizaci projektu byl vytvořen společný tým složený z pracovníků TNO a VÚPP. Členové české části týmu absolvovali kurs „HACCP based Food Safety Management“, který byl uzavřen zkouškou a udělením osvědčení. Dva členové projektového týmu měli možnost se zúčastnit mezinárodní konference v nizozemském Noordwijku (2. International Food Safety and HACCP Conference), mezi jejíž hlavní organizátory patřil ústav TNO. Konference byla zaměřena na rozvoj a výměnu zkušeností ze zavádění systému HACCP na mezinárodní úrovni.

2. mezinárodní konference o zdravotní nezávadnosti potravin a HACCP Noordwijk 1998

Aby se snížil počet nemocí pocházejících z potravin, je třeba, aby všechny podniky, které produkují, zpracovávají nebo přepravují potravinářské výrobky, zavedly systém zajišťující zdravotní nezávadnost potravin doporučený mezinárodními organizacemi FAO (United Nations' Food and Agricultural Organization) a WHO (World Health Organization). Tento systém, který je znám jako Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP), se stává významným v celosvětovém měřítku a uplatňuje se především v takových oblastech světa, jako jsou Austrálie a Nový Zéland, USA a Evropská unie. World Trade Organization podporuje celosvětové používání systému HACCP, jako jeden z hlavních nástrojů pro vytváření podmínek pro rozvoj světového obchodu s potravinami.

Tato témata byla základem jednání 2. mezinárodní konference o zdravotní nezávadnosti potravin a HACCP (The Second Food Safety & HACCP Conference), která se konala v Noordwijku ve dnech 8.–9. června 1998. Konference se zúčastnilo celkem asi 180 účastníků ze 37 zemí světa. Organizátorem konference bylo Noordwijk Food Safety & HACCP Forum, nezávislá skupina usilující o lepší porozumění systému HACCP v celosvětovém měřítku. Významnou roli v této skupině hraje také ústav TNO v Zeist. Jednání navazovala na první konferenci, kterou tato skupina uspořádala v únoru 1997.

Organizace FAO a WHO definovaly směrnice pro systém HACCP v Codexu Alimentarius. Podle tohoto systému výrobce potravin stanovuje ve výrobě možná nebezpečí pro spotřebitele a identifikuje body, které jsou kritické pro zvládnutí těchto nebezpečí. Výrobce potravin musí přijmout opatření pro zvládnutí těchto kritických bodů a provádět o tom odpovídající záznamy. Tímto způsobem mohou výrobci potravin vždy doložit, jakým způsobem probíhá zvládnutí výroby vzhledem k zabezpečení zdravotní nezávadnosti potravin, a to jak kontrolními orgány, tak zvláště svým zákazníkům a spotřebitelům. Skupina expertů soustředěná v Noordwijk Forum se snaží o sblížení současných nejednotných přístupů k HACCP do jednotné koncepce a do jednoho celosvětového standardu.

Hlavní diskutovanou otázkou na konferenci byly bezpodmínečně nutné podmínky, které musí provázet zavedení HACCP. Zástupci USA se domnívají, že mezi základní předpoklady pro účinné fungování systému HACCP patří hygienické podmínky výroby, dodavatelské specifikace a plány údržby, které musí výrobce splnit ještě před zavedením systému HACCP. Jiní účastníci konference však uváděli, že tyto prvky by měly být součástí každého integrovaného systému HACCP, protože jejich selhání lze také identifikovat jako „kritické kontrolní body“. Nizozemský přístup upřednostňuje „komplexní plány HACCP“ obsahující všechny životně důležité prvky pro zajištění zdravotní nezávadnosti potravin, které se vztahují k dané výrobní jednotce. Komplexní plány HACCP poskytují systém garantující zdravotní nezávadnost výrobků, dají se poměrně snadno uplatnit v praxi a jsou vhodné jak pro malé a střední výrobce potravin v rozvinutých zemích, tak pro výrobce potravin v rozvojových zemích.

Od roku 1993, kdy byl doporučen systém HACCP v Codexu Alimentarius, mají národní vlády zapracovat požadavky na HACCP do své legislativy. Vlády však umožnily poměrně volný výklad týkající se způsobu zavedení systému HACCP v potravinářských podnicích. Tomu odpovídalo tematické zaměření pracovních sekcí konference. Otázkami souvisejícími se zajištěním celosvětově jednotného přístupu k zabezpečení zdravotní nezávadnosti potravin se zabývaly sekce o ekvivalenci a globalizaci světového obchodu s potravinami. Další sekce se zabývaly základními pojmy HACCP (jako jsou validace a verifikace, hodnocení rizika) a jejich aplikaci v potravinářské výrobě. Významnými a velmi diskutovanými otázkami byly úloha státu při zavádění a inspekci systému HACCP a otázky související s certifikací systémů HACCP a jejím významem. Pozornost byla věnována také novým technologiím v potravinářském průmyslu z hlediska vlivu na zdravotní nezávadnost potravin.

Koncept HACCP byl vyvinut v 70. letech v USA v Pillsbury Company, v době kdy National Aeronautics and Space Administration (NASA) požadovala „nulový počet vad“ u potravin pro astronauty. Koncept převzal FDA (Food and Drug Administration) a současně o systém HACCP projevil zájem organizace FAO a WHO. Nyní dochází k velkému rozšíření systému HACCP, i když způsoby implementace se mohou velmi odlišovat. Rozdílné přístupy lze najít mezi Austrálií a Novým Zélandem, Evropskou unií, Japonskem a USA. Současný vývoj v USA (prosazovaný FDA) lze charakterizovat skutečností, že výrobní společnost musí před zavedením systému HACCP přijmout program zajišťující splnění nezbytných předpokladů. Ve Spojených státech je význam systému HACCP zdůrazněn v tzv. Iniciativě prezidenta Clintona z roku 1997, kde je systém HACCP jmenovitě uveden jako systém, kterým se má zabezpečovat zdravotní nezávadnost potravin. V Austrálii a Novém Zélandu je registrováno více než 80 různých způsobů vývoje a implementace HACCP. V Japonsku byl zvolen přístup, při kterém se systém HACCP zavádí postupně po jednotlivých krocích. Evropská unie zahrmla požadavky HACCP do své Direktivy 93/43/EEC; tento dokument se v současné době reviduje. Většina členských států již zavedla tyto požadavky do své legislativy. Neznamená to však jednotný postup ve všech členských státech. Některé členské státy EU jsou při zavádění systému HACCP aktivnější než jiné. K tomu je třeba dodat, že bude nutné vyvinout ještě značné úsilí, aby bylo vyjasněno, že systém HACCP je životně důležitý pro veřejné zdraví a nelze je směřovat s opatřeními proti konkurenci.

Značná pozornost byla věnována otázkám vztahu mezi inspekci a certifikací systému HACCP. Státní orgány dozoru mají za povinnost kontrolovat, zda potravinářské společnosti mají správně vypracovaný a zavedený systém HACCP. To znamená, že inspektoři se svým způsobem stávají auditory pro zkoušení funkčnosti HACCP systému. V Nizozemsku představitelé potravinářského průmyslu již dříve uvažovali o možnosti certifikace systému, aby bylo možné dosáhnout mezinárodního uznání systémů HACCP. V květnu 1996 přijalo sedm mezinárodně uznávaných certifikačních společností působících v Nizozemsku (mezi nimi např. Lloyd, TNO Certification a det Norske Veritas) základní schéma pro certifikaci HACCP – Criteria for certification of an operational HACCP system. Dne 10. června byl v návaznosti na konferenci v Noordwijku uspořádán tzv. Workshop, který se zabýval certifikací systémů HACCP. Zde bylo mimo jiné uvedeno, že certifikát systému HACCP již v Nizozemsku získalo celkem asi 100 společností. Certifikace je vyjádřením nejen toho, že se společnost rozhodla investovat do splnění požadavků systému HACCP, ale také že systém provozuje a udržuje správným způsobem. Nizozemský systém certifikace je charakterizován tím, že není zaměřen pouze na analýzu nebezpečí a ovládání kritických bodů, ale že také zahrnuje prvky nutné pro management zajišťující funkčnost systému HACCP. Tímto způsobem systém zahrnuje celou oblast managementu, který je zaměřen na zabezpečení zdravotní nezávadnosti potravin.

Skupina z Forum Noordwijk má celkem devět členů: Ton BARENSZ, TNO Nutrition and Food Research Institute, Zeist, Nizozemsko; Gregory ORRIS, FAO, Itálie; Daan BARUG, Ranks Meel, Nizozemsko; Peter FOLSTAR, TNO, Nizozemsko (předsedající Forum Noordwijk); Tony MAES, Unilever, Velká Británie; Yasmine MOTARJEMI, WHO, Švýcarsko; Ross PETERS, Food Operations, Austrálie; Merle PIERSON, Virginia Polytechnic Institute and State University, USA; Mike van SCHOTHORST, Nestlé, Švýcarsko.

Při zpracování byly použity materiály z 2. mezinárodní konference o zdravotní nezávadnosti a HACCP v Noordwijku a z rozhovoru s p. Barendszem, který byl uveřejněn v časopisu World Food Regulation, 8, č. 2, červen 1998.

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 číslované. Každý obrázek musí mít stručný a výstižný popis.

Separáty: Autor obdrží zdarma 30 separátů výtisků práce.

CONTENTS

Celba J.: 40 years of Food Research Institute in Prague (in Czech)	161
Fiedlerová V.: Spectrophotometric determination of iodine and its content and stability in selected food raw materials and products	163
Gottvaldová M., Prošková A., Kučera J.: Kinetic parameters of modified lysozyme	168
Kmínková M., Kučera J. (1998): Partial purification and characterisation of superoxid dismutase from carp hepatopancreas	171
Kučerová Z., Kučera J.: Aspartic acid proteinases of carp (<i>Cyprinus carpio</i>) hepatopancreas and rainbow trout (<i>Salmo gairdneri</i>) stomach	175
Houšová J., Hoke K., Topinka P.: Temperature distribution in a layer of food heated by microwaves	179
Houška M., Kýhos K., Grée R., Strohaln J., Landfeld A., Novotná P., Švadlenka J., Adámek L.: Rheological properties of fruit pulp during concentration (in Czech)	189
REVIEW	
Gottvaldová M., Prošková A., Kučera J.: Bakteriolytic enzymes in food safety (in Czech)	195
CONFERENCES AND SEMINARS	
Fiedlerová V., Holasová M.: XXIX. Symposium New trends of production and evaluation of foods (in Czech)	202
INFORMATION	
Horčica A.: International co-operation of Food Research Institute Prague (in Czech)	203
BIBLIOGRAPHICAL NOTICE	
Seventieth Birthday of Ing. Miloslava Adama, CSc. (in Czech)	174

OBSAH

Celba J.: 40 let Výzkumného ústavu potravinářského v Praze	161
Fiedlerová V.: Spektroskopické stanovení jodů a jeho obsah a stabilita ve vybraných potravinářských surovinách a výrobcích	163
Gottvaldová M., Prošková A., Kučera J.: Kinetické parametry modifikovaného lysozymu	168
Kmínková M., Kučera J. (1998): Parciální purifikace a charakteristika superoxid dismutasy z hepatopankreasu kapra	171
Kučerová Z., Kučera J.: Aspartátové proteasy z hepatopankreatu kapra (<i>Cyprinus carpio</i>) a žaludku pstruha duhového (<i>Salmo gairdneri</i>)	175
Houšová J., Hoke K., Topinka P.: Rozložení teplot ve vrstvě potraviny při mikrovlnném ohřevu	179
Houška M., Kýhos K., Grée R., Strohaln J., Landfeld A., Novotná P., Švadlenka J., Adámek L.: Reologické vlastnosti ovocných dění v průběhu zahušťování	189
REVIEW	
Gottvaldová M., Prošková A., Kučera J.: Bakteriolytické enzymy v ochraně potravin	195
KONFERENCE A SEMINÁŘE	
Fiedlerová V., Holasová M.: XXIX. Sympozium o nových směrech výroby a hodnocení potravin	202
INFORMACE	
Horčica A.: Mezinárodní spolupráce Výzkumného ústavu potravinářského Praha	203
ŽIVOTNÍ VÝROČÍ	
Sedmdesátiny Ing. Miloslava Adama, CSc.	174

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 I. 203, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@login.cz ● Tisk: ÚZPI Praha ● © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1998