

CZECH ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES

Czech Journal of
FOOD SCIENCES

Potravinářské vědy

INSTITUTE OF AGRICULTURAL AND FOOD INFORMATION

6

VOLUME 17
December 1999
ISSN 1212-1800

Czech Journal of Food Sciences

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 gescí České akademie zemědělských věd

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

EDITORIAL BOARD – REDAKČNÍ RADA

J. VELÍŠEK (Praha, Czech Republic) – Chairman

M. BRAUNOVÁ (Editor-in-Chief)

W. BALTES (Berlin, Germany)

R. BATTAGLIA (Zurich, Switzerland)

L. BENEŠOVÁ (Praha, Czech Republic)

D. ČURDA (Praha, Czech Republic)

J. DAVÍDEK (Praha, Czech Republic)

J. DRBOHLAV (Praha, Czech Republic)

S. GROSOVÁ (Praha, Czech Republic)

M. HOLASOVÁ (Praha, Czech Republic)

J. HOUŠOVÁ (Praha, Czech Republic)

I. INGR (Brno, Czech Republic)

M. KOVÁČ (Bratislava, Slovak Republic)

H. KOZLOWSKA (Olsztyn, Poland)

R. LÁSZTITY (Budapest, Hungary)

W. PFANNHAUSER (Graz, Austria)

J. POKORNÝ (Praha, Czech Republic)

A. PRÍBELA (Bratislava, Slovak Republic)

M. RYCHTERA (Praha, Czech Republic)

Z. ŠIMŮNEK (Praha, Czech Republic)

M. TAKÁCSOVÁ (Bratislava, Slovak Republic)

B. TUREK (Praha, Czech Republic)

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 17 appearing in 1999.

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 22 52 04 11, fax: + 420 2 24 25 39 38, e-mail: editor@uzpi.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 1999 is 92 USD (Europe) and 97 USD (overseas).

Actual information are available at URL address: <http://www.uzpi.cz>

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 17 vychází v roce 1999.

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.: 02/22 52 04 11, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@uzpi.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 1999 je 372 Kč.

Aktuální informace najdete na URL adrese: <http://www.uzpi.cz>

The Composition of Essential Oil from Laurel Leaf

DANG MINH NHAT, MÁRIA TAKÁCSOVÁ, TIBOR JAKUBÍK, NGUYEN DAC VINH

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

Abstract

MINH NHAT D., TAKÁCSOVÁ M., JAKUBÍK T., DAC VINH N. (1999): The composition of essential oil from laurel leaf. Czech J. Food Sci., 17: 201–203.

The composition of essential oil from laurel leaf was analyzed by GC-MS. A total number of 49 compounds were found to be present in the oil. The main constituents of laurel leaf essential oil are 1,8-cineol (45.7%), α -terpinyl acetate (14.8%), sabinene (12.7%), α -pinene (4.8%), terpinene-4-ol (3.7%), α -terpineol (2.8%) and caryophyllene oxide (1.3%). The concentration of eugenol was lower than is reported in literature, which can affect the antioxidative and antimicrobial effect of laurel leaf.

Key words: laurel leaf; spice; spice composition; GC-MS

Laurel leaf (*Laurus nobilis* L.) is a very popular and favorable spice. It grows in Minor Asia and around the Mediterranean Sea. The leaf possesses a characteristic spicy aroma and bitter taste, so that it is commonly used for the preparation of soups, sauces, jellies, sausages, roasts and also for other vegetable preparation (ROMVÁRY 1982). Results of some studies have shown its antioxidant effect (LÖLIGER *et al.* 1996; NAKATANI 1994).

For evaluating the quality of laurel leaf and understanding its effect against oxidation, it is important to know the composition of essential oil. Reports from some studies have shown that the essential oil of laurel leaf includes mainly 1,8-cineol, sabinene, eugenol, linalool, pinene, methyl eugenol, terpineol (BORGES *et al.* 1992; VONÁŠEK *et al.* 1987).

The aim of our recent work is to determine the chemical composition of laurel leaf essential oil from commercial sources in the Slovak Republic.

MATERIALS AND METHODS

The isolation of essential oil: Analyzed laurel leaf was retrieved from a commercial source: VIDO Ltd. Co. The Spice was ground in a vibration mill. Essential oil was retrieved by hydrodistillation of ground spice (PRÍBELA 1987). The yield was 1.5%.

Essential oil analysis: The composition of essential oil was determined by means of gas chromatography combined with mass spectrometry (GC-MS) after diluting essential oil with hexane and filtration through water free sodium sulfate.

The MS 25 RFA from KRATOS (Manchester) equipped with CHROMPACK chromatographic column CP Sil & CB (25 m \times 0.32 mm) was used for GC-MS analysis; the film thickness was 0.12 μ m.

The operating conditions of GC-MS analysis were as follows:

- Temperature program: 2 min isothermal at 50°C, temperature increase: 2°C/min to 260 °C.
- Carrier gas: helium at 1 ml/min.
- Electron energy: 70 eV.
- Ion current: 100 μ A.
- Injector temperature: 250°C.
- Scan speed of mass spectra 0.6 s/decade.

The identification of mass spectra was carried out by the spectra interpretation and comparing spectra with data from mass spectrometric libraries.

RESULTS AND DISCUSSION

The GC-MS chromatogram of laurel leaf essential oil is shown in Fig. 1. Table 1 shows the percentage representation of constituents of essential oil from laurel leaf, which was calculated by quantification of GC-MS chromatogram. In total, 49 compounds were found to be present, 12 constituents were not identified. According to the similar mass spectrum of peak 33 (which was identified as β -elemene) and peak 35, it is proposed that the compound of peak 35 has a very similar structure to the structure of β -elemene. The same was found in the case of peaks 9 and 11 as well as peaks 17 and 20, although the structure of these constituents was unable to be identified. A constituent – dibutylphthalat-, which was present in 0.3%, was from the solvent.

The main constituents of essential oil from laurel leaf are 1,8-cineol (45.7%), α -terpinyl acetate (14.8%), sabinene (12.7%), α -pinene (4.8%), terpinene-4-ol (3.7%), α -terpineol (2.8%) and caryophyllene oxide (1.3%) (Fig. 2).

Comparing our results and the results from reported study (BORGES *et al.* 1992) we see some quality differences.

Table 1. The composition of essential oil from laurel leaf

Peak No.	Constituent	[%]	Peak No.	Constituent	[%]
1	2-methylbutyl acetate	0.1	26	sabinyol acetate	0.2
2	α -thujene	0.3	27	L-bornyl acetate	0.3
3	α -pinene	4.8	28	- u -	0.2
4	camphene	0.3	29	- u -	0.3
5	sabinene	12.7	30	- u -	1.2
6	2,3-dehydro-1,8-cineol	0.1	31	α -terpinyl acetate	14.8
7	1,8-cineol	45.7	32	eugenol	0.4
8	γ -terpinene	0.8	33	β -elemene	0.2
9	- u -	0.6	34	methyleugenol	0.7
10	terpinolene	0.1	35	- u -	0.5
11	-n-	0.5	36	α -muurolene	0.1
12	β -linalool	0.9	37	eremophylene	0.2
13	- u -	0.4	38	γ -cadinene	0.2
14	pinocarveol	0.6	39	δ -cadinene	0.1
15	sabinylnketone	0.4	40	α -caryophylene	traces
16	thujene-2-ol	0.5	41	spathulenol	0.1
17	- u -	0.9	42	caryophylene oxide	1.3
18	terpinene-4-ol	3.7	43	- u -	traces
19	myrtenal	0.2	44	guaialol	traces
20	α -terpineol	2.8	45	- u -	0.2
21	myrtenol	0.7	46	β -eudesmol	0.8
22	<i>trans</i> -carveol	0.1	47	globulol	0.1
23	- u -	0.2	48	dibutylphthalate	0.3
24	- u -	0.1	49	dehydrocostulacton	0.1
25	carvone	0.2			

- u - unidentified constituent

Eugenol, its structure is represented in Fig. 2, has been assumed as a natural antioxidant and antimicrobial constituent of a number of spices (CHYLEOVÁ 1986; LÖLIGER *et al.* 1996). It was found in the study mentioned as the second most abundant constituent of essential oil (18%), but in our study it was present at a small concentration (0.4%). Because of this lower concentration of eugenol, it is expected that the essential oil of analyzed laurel leaf has

a weaker antioxidative effect. Beside caryophylene, caryophylene oxide was also identified in the studied oil, possibly because of oxidation during distillation. Sabinene hydrate was not present in our essential oil, but sabinyol acetate and sabinyol ketone were found.

Results from our study show that the chemical composition of essential oil from laurel leaf available from a commercial source in Slovakia is qualitatively and quantitatively

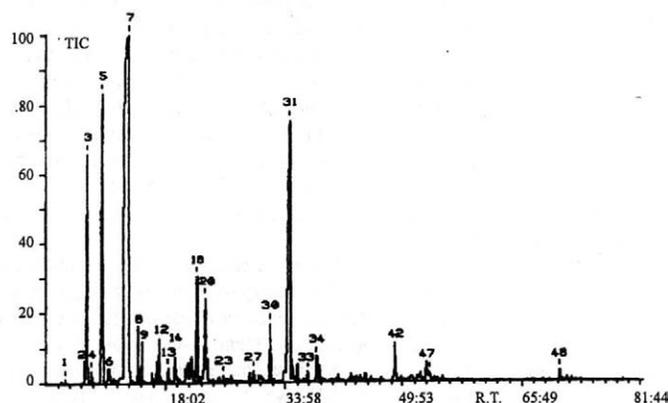


Fig. 1. The GC chromatogram of the essential oil from laurel leaf

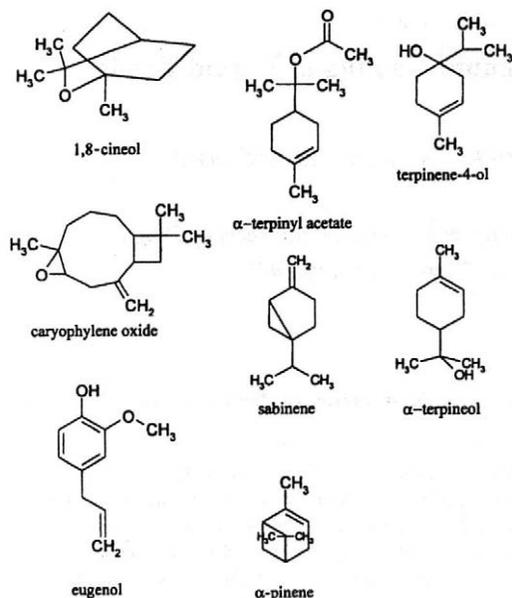


Fig. 2. The structures of some constituents of laurel leaf essential oil

different from that mentioned in the literature. We propose the low concentration of eugenol in essential oil can have an influence on the antioxidant and antimicrobial effect of this spice. The precise representation of each constituent should be determined by other techniques, for example GC.

References

- BORGES P., PINO J., SANCHEZ E. (1992): Isolation and chemical characterization of laurel leaf oil. *Nahrung*, **36**: 494–496.
- CHYLEOVÁ L. (1986): Koření a jeho použití v potravinářském průmyslu. [Závěrečná etapová správa]. Praha, VÚPP-STI.
- LÓLIGER J., LAMBELET P., AESCHBACH R., PRIOR E. M. (1996): Natural Antioxidants: from Radical Mechanisms to Food Stabilization. *Food Lipid and Health*. New York–Basel–Honkong, Marcel Dekker Inc.: 315–343.
- NAKATANI N. (1994): Chemistry of antioxidants from *Labiatae* herbs. In: *Food Phytochemicals for Cancer Prevention II*. Washington DC, Amer. Chem. Soc..
- PRÍBELA A. (1987): Analýza potravín – cvičenie. 1. vyd. Bratislava, ES SVŠT.
- ROMVÁRY V. (1982): Koreniny a pochutiny v domácnosti. 3. vyd. Bratislava, ALFA.
- VONÁŠEK F., TREPKOVÁ E., NOVOTNÝ L. (1987): Látky vonné a chuťové. 1. vyd. Praha, SNTL/ALFA.

Received for publication February 17, 1999

Accepted for publication May 4, 1999

Súhrn

MINH NHAT N., TAKÁCSOVÁ M., JAKUBÍK T., DAC VINH D. (1999): Složení silic bobkového listu. *Czech J. Food Sci.*, **17**: 201–203.

Zloženie silíc bobkového listu bolo analyzované GC-MS. Celkovo bolo zistených 49 zlúčenín. K hlavným zložkám silíc bobkového listu patrí 1,8-cineol (45,7%), α -terpinylacetát (14,8%), sabinén (12,7%), α -pinén (4,8%), terpinén-4-ol (3,7%), α -terpineol (2,8%) a oxid karyofylénu (1,3%). Zistila sa nižšia koncentrácia eugenolu ako bola publikovaná v literatúre, čo môže ovplyvňovať ich antioxidantný a antimikrobiálny účinok.

Kľúčové slová: bobkový list; koreniny; zloženie korenín; GC-MS

Corresponding author:

Doc. Ing. MÁRIA TAKÁCSOVÁ, CSc., Slovenská technická univerzita, Chemickotechnologická fakulta, Katedra sacharidov a konzervácie potravín, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika, tel.: + 421 7 59 32 55 57, fax: + 421 7 39 31 98, e-mail: dang@chelin.chtf.stuba.sk

Mass Transfer Coefficient for Vacuum Cooling of Liquid Foods*

PETR BARTOŠ¹, MILAN HOUŠKA², PAVEL HOFFMAN¹, KAREL KÝHOS², JIŘÍ ŠESTÁK¹

¹Czech Technical University in Prague – Faculty of Mechanical Engineering, Prague;

²Food Research Institute Prague, Prague, Czech Republic

Abstract

BARTOŠ P., HOUŠKA M., HOFFMAN P., KÝHOS K., ŠESTÁK J. (1999): Mass transfer coefficient for vacuum cooling of liquid foods. *Czech J. Food Sci.*, 17: 204–210.

The work contains results from the research on mass transfer coefficient during the boil of Newtonian fluids, induced by the pressure decrease (during the cooling process). Results of experiments have been correlated into the dimensionless equation, which comprises criteria, by Sherwood, Reynolds and Schmidt extended by the ratio of liquid column vs. mean diameter of vapor bubbles (bubbles that pass upwards). The resulting correlation is amended by the simple theory of determination of interfacial surface. Resulting dimensionless equation is applicable to the prediction of the mass transfer coefficient and subsequently to the design of vacuum coolers which process Newtonian fluid foods. Results are applicable also to the mathematical simulation of processes.

Key words: mass transfer coefficient; vacuum cooling; liquids

Adequately, rapid cooling is except for a heating-up operation the consecutive part of food hygiene safety production executed in compliance with good manufacture practice. Unlike heating-up, a lesser attention was paid to this operation in the past. Abroad, on the other hand, the Food Safety Regulations determine maximal cooling periods of big joint of meat. Similar regulations are prepared also in this country in connection with the chilled and frozen food production for public catering. One of the most effective methods of food cooling is vacuum cooling.

The vacuum cooling is an interesting procedure for food industry due to more reasons. Above all it is the rapidity of cooling which could successfully eliminate the higher temperature influence on sensitive – thermally unstable food components (for instance the pectin-chain component degradation, decrease of vitamin content, discoloration). The rapidity of cooling is very important from the standpoint of food safety conditions. The more rapid the cooling, the lower risk of the undesirable growth of microorganisms. The most dangerous temperature range for the growth is between 30–40°C.

The principle of vacuum cooling of fluid food products is based on the evaporation of water vapor (from product) at reduced pressure during boiling. The evaporation heat is taken away from the heat content of the batch. As

the evaporation heat is much higher than specific heat of cooled fluid, the cooling is very effective.

It is problematic to satisfy demands for required temperature and comply with prescribed concentration during the operation of fluid vacuum cooling. This problem is possible to solve successfully by the selection of initial conditions of the fluid (initial concentration, temperature) and by the experimental determination of the cooling conditions (from initial to final temperature). This is the case of simple vacuum cooling, which is attained only due to vapor condensation at the expense of batch heat content. Furthermore, combined procedures are possible:

- cooling by vapor condensation with simultaneous batch heating (the goal is to reach the higher concentration than can be done by simple vacuum cooling),
- cooling by vapor condensation with simultaneous batch cooling by the duplicator (the goal is to reach the lower concentration than can be done by simple vacuum cooling).

These combinations enable to reach a desired final temperature and batch concentration. An extensive research on the present vacuum cooling application is shown in Bartoš diploma thesis (1998). There have been published many research papers in the literature dealing with applications of the process, e.g., for the marchpane dough cooling, baby nutrition (expansion into a vacuum vessel is here

*This work has been accomplished with contributions of grant No. 101/96/0327 GA ČR and partly also grant No. EP-6260 of Ministry of Agriculture of the Czech Republic.

called “flash cooling”), fruit spreads, potatoes, mushrooms, Spanish chestnut, lettuce and sliced cabbage, blueberries, bread and processed cheese.

Theory

Determination of kS product

In the process of vacuum cooling the mass decrease of batch occurs as a consequence of exhausted vapor condensation. The cooling process driving power is the concentration differential, defined by water vapor partial pressure P at a point of formation of vapor bubbles and in system p . The BURFOOT and HAYDEN (1989) relation is accepted for that case.

$$-\frac{dm}{dt} = k.S.(P - p) \quad [1]$$

DITL and ŠULC (1998) have been engaged in those problems recently. They have deduced a differential equation that describes a transitional process of vaporization from the overheated solution (simultaneous mass and heat transfer) including the dimensionless form, which is valid for the step change of pressure. The work does not solve the problems of determination of interfacial area size.

Owing to the fact that the interfacial area size S is possible to be determined only roughly (see below), we determine the value of kS product from experiment. Values of absolute pressure p have been calculated according to daily measured barometric pressure. The value of pressure P of saturated water vapor has been determined for batch temperature T . This is a value of pressure when the water evaporation caused by boiling starts. For kS product data evaluation we proceed from [1], shaped as:

$$-dm = k.S.(P - p).dt \quad [2]$$

We convert this equation into integral form. We suppose product $kS = \text{const.}$:

$$-\int_{m(0)}^{m(t)} dm = kS \int_0^t (P - p) dt \quad [3]$$

As the $(P - p)$ difference is a time function defined only as a table of discrete experimental data, we convert this equation [3] into the following form:

$$m_0 - m_t = kS \sum_0^t (P - p) \Delta t \quad [4]$$

When we plot data into a diagram where the axis $y = m_0 - m_t$ represents the mass of water evaporated within specified period and x axis represents quantity:

$$x = \sum_0^t (P - p) \Delta t$$

We obtain the typical shaped curve of vacuum boiling (for selected typical measurement run).

The linear section is evident in the diagram, where value $kS = \text{const.}$ As a result of regression application to this section we obtain the value of kS , which represents the line slope. Outside this linear section the kS product is not constant any more and model (1) cannot be used. Owing to the fact that 80% of vapor evaporates within the linear section, this section is the crucial for the process and henceforth we will deal only with it.

Determination of Approximate Size of Interfacial Area S

Linear section (see above) corresponds to bubble boil, which comes through the whole mass of batch (observed during experiments). By the omission of surface evaporation, the interfacial area S is equal to the sum of partial surfaces of all bubbles inside the batch. We will use the following relations for approximate determination of the area:

At first we determine the vapor mass-flow in linear section:

$$\dot{m}_L = \frac{m_L}{t_L} \quad [5]$$

where: m_L – mass of water evaporated in linear section
 t_L – operating period of linear section

The volumetric flow of vapor is given by the equation:

$$\dot{V}_L = \dot{m}_L \cdot v'' \quad [6]$$

where: v'' – specific volume of vapor at mean temperature of linear section T_{SL}

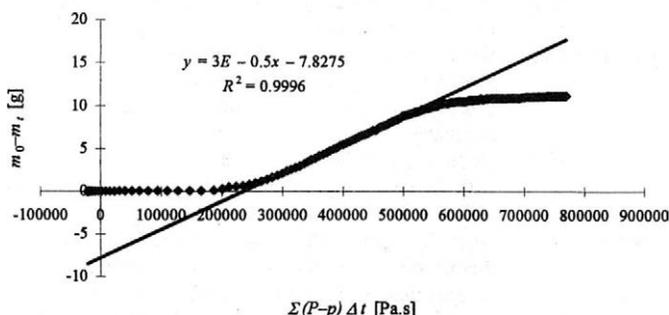


Fig. 1. Typical dependence of condensation volume increment (as a pressure integral function)

Next we have to know the bubble diameter D_B . We determine it from the Laplace formula (ŠESTÁK & ŽITNÝ 1997) providing that the bubble is ball-shaped:

$$D_B = \sqrt{\frac{\sigma}{g(\rho - \rho'')}} \quad [7]$$

where: σ – surface tension of the batch fluid at T_{SL}
 g – the acceleration of gravity
 ρ – the batch fluid density at T_{SL}
 ρ'' – vapor density at temperature T_{SL}

From the bubble diameter we calculate its volume:

$$V_B = \frac{1}{6} \pi \cdot D_B^3 \quad [8]$$

We use the volume of bubble for the “bubble-flow” determination:

$$n_B = \frac{V_L}{V_B} \quad [9]$$

To determine the number of bubbles in the batch we have to know a detention period:

$$t_z = \frac{L_B}{u_B} \quad [10]$$

where: L_B – path on which the bubble must flow through

We can simplify it and substitute the height of fluid level in cooker L . The symbol u_B means the velocity of bubble climbing. We can write the equilibrium of forces acting on each bubble:

$$\frac{\pi \cdot D_B^3}{6} \cdot \rho \cdot g - \frac{\pi \cdot D_B^3}{6} \cdot \rho'' \cdot g = C_D \frac{\pi \cdot D_B^2}{4} \frac{u_B^2}{2} \rho \quad [11]$$

When we express the bubble velocity from relation [11], we obtain:

$$u_B = \sqrt{\frac{4 D_B^3 (\rho - \rho'') g}{3 C_D \rho}} \quad [12]$$

The direct calculation of velocity from equation [12] is impossible because friction factor C_D is a function of Reynolds number (see NOVÁK & RIEGER 1994), in which the unknown velocity u_B occurs. We can obtain the simple expression for the bubble velocity calculation only when we are able to estimate a character of bubble flow in the fluid. We use a dimensionless criterion $C_D Re^2$ for this purpose:

$$C_D Re^2 = \frac{4 D_B^3 (\rho - \rho'') \cdot \rho \cdot g}{3 \mu^2} \quad [13]$$

We can calculate boundary values from the given threshold limits of Re :

a) We obtain for the Stokes's zone $C_D Re^2 < 48$

$$u_B = \frac{D_B^2 (\rho - \rho'') g}{18 \mu} \quad [14]$$

b) We obtain for the transitional zone $48 < C_D Re^2 < 1.1 \times 10^5$ and the bubble velocity expression will be following:

$$u_B = 0.153 \frac{D_B^{1.14} (\rho - \rho'')^{0.71} g^{0.71}}{\rho^{0.29} \mu^{0.43}} \quad [15]$$

c) We obtain for the Newton's zone $1.1 \times 10^5 < C_D Re^2 < 4 \times 10^{10}$ and the bubble velocity expression will be following:

$$u_B = 1.74 \sqrt{\frac{D_B (\rho - \rho'') g}{\rho}} \quad [16]$$

The number of bubbles inside the batch can be predicted by the equation:

$$n_B = t_z \cdot n_B \quad [17]$$

Approximate interfacial area size S is given by equation:

$$S = \pi \cdot D_B^2 \cdot n_B \quad [18]$$

When we divide product kS by value of S , we obtain the value of mass transfer coefficient k .

Summary of Relations for Mass Transfer Coefficients

The dimensionless criterion of mass transfer results from the inspection analysis of mass transfer equations (DITL 1996). This criterion is then applicable to the description of a given phenomenon, especially under conditions of turbulence flow. Especially next equations fit analogous conditions for the vacuum cooling of fluids.

The mass transfer during of fluid flow around the ball:

$$Sh = 2 + 0.552 Re^{1/2} \cdot Sc^{1/3} \quad [19]$$

The range of validity: $0 < Re < 10^5$, $0.6 < Sc < 2.7$

The flow in solid bed of particles:

$$Sh = 1.82 Re^{0.49} \cdot Sc^{1/3} \quad [20]$$

The range of validity: $50 < Re < 350$

$$Sh = 0.989 Re^{0.59} Sc^{1/3} \quad [21]$$

The range of validity: $350 < Re < 5000$ where

$$Sh = \frac{k \cdot D}{D_{AB}}, \quad Re = \frac{u \cdot D \cdot \rho}{\mu}, \quad Sc = \frac{\mu}{D_{AB} \cdot \rho}$$

MATERIAL AND METHODS

Description of Experimental Set-up

The series of measurements has been performed with an experimental set-up installed in the Food Research Institute Prague for determination of kS product. The basic element of the device is a glass bell, made of special glass Simax, engineered for vacuum keeping. The bell is placed on the support plate which was equipped with sealing material to fit well to the bell to keep the vacuum. Under the glass bell the digital scale Sartorius is placed with the measuring range of 0–550 g. The scale is connected to the measuring card of PC through a special converter. The glass with sample in placed on the scale. The thermocouple is installed in the vacuum chamber to measure the fluid temperature in the glass. The thermocouple is connected through a converter to the measuring card of

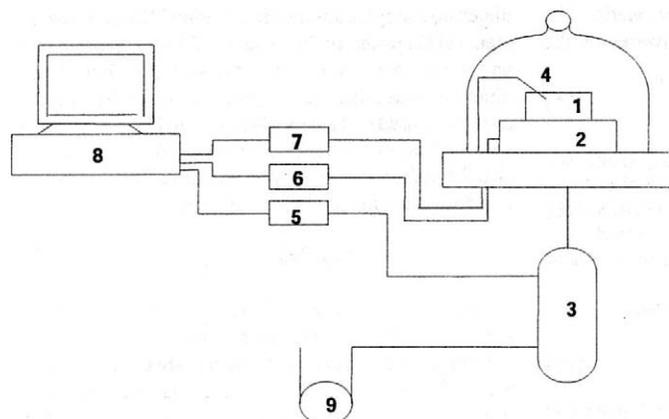


Fig. 2. Schematic representation of experimental set-up

- 1 – glass with sample
- 2 – scale
- 3 – steam condenser
- 4 – thermocouple sensor
- 5 – pressure converter
- 6 – weight converter
- 7 – temperature converter
- 8 – PC
- 9 – oil vacuum pump

PC. The oil vacuum pump is attached by flexible tube to the steam condenser and stopcock and to the support plate. The vacuum is measured by the pressure-difference converter BHV 5355 DM that is also connected to the measuring card of PC (Fig. 2).

Experiments conducted in the company Brilliant Nova, Ltd., located in Horní Počernice (PODLOUCKÝ 1994) have also been included into the final evaluation. There was installed a vacuum cooker for jam production. The cooker has been made under nomenclature AV-630. The device works in closed system with optional sterilization temperatures in the range 90–98°C and is provided with controlled vacuum cooling by a water ring pump. The inner diameter of the cooker vessel is $D_n = 884$ mm and volume of the batch is about 500 litres.

The Methodology of Measuring

The series of sixty-four measurements has been performed with a lab apparatus in the Food Research Institute Prague. Three different flame-ware jars were used to reach miscellaneous cooling volumes. Jar diameters were Jar No. 1 $D = 44$ mm, Jar No. 2 $D = 59.9$ mm, Jar No. 3 $D = 86.1$ mm. Pure water was used as a cooled fluid at first and twelve measurements were carried out – four per each jar. Further the sugar solution was used with the mass concentration 20%, 30%, 40%, 50%, and 60% at the beginning of the measurement. The sugar solution was boiled in the process of measurement, and so the continuous change of concentration distribution was reached. Sampling was performed within each set of measurements that enabled determination of all necessary solution properties. Dry matter was determined with a refractive indexmeter Zeiss for all samples. The numerical values of density ρ , dynamic viscosity μ and surface tension for each measurement were predicted using the Sugar Industry Tables (BRETSCHNEIDER 1975) for the mean temperature of linear section T_{SL} .

A teaspoon of sea sand was placed on the bottom of each jar before start of measurement to enable easier pro-

duction of vapor bubbles. This jar was put on the scale which had been zeroed before each measurement. Therefore, only the batch mass was read on the scale. The measured fluid heated nearly to the boiling temperature was filled into the experimental jar. The jar was placed on the scale and the system covered up by bell. Then the stopcock was opened and at the same time the program was run for experimental data reading. The values of instantaneous mass m , instantaneous temperature T and instantaneous pressure were read stepwise with time step 1 second. The atmospheric pressure p_a was read on a stationary barometer located in the same room as the measuring apparatus at each set of measurements. The measured value of the atmospheric pressure was used for the absolute pressure calculation.

Nine measurements was accepted from the source (PODLOUCKÝ 1994) – three measurements made for pure water and six measurements made for sugar solution with concentration about 60%. All the measurements were interpreted according to above mentioned procedure.

RESULTS AND DISCUSSION

When we are able to calculate the interfacial area S (see above), we are able to eliminate it from the product of kS . We can search for the relation between dimensionless parameters which was found in the literature for prediction of mass transfer coefficient in similar mass transfer problems:

$$Sh = a_0 \cdot Re_B^{a_1} \cdot Sc^{1/3} \quad [22]$$

where:

$$Sh = \frac{k_p \cdot D_B}{D_{AB}} \quad [23]$$

In this relation: k_p is the mass transfer coefficient recalculated by using the following relation (providing that the ideal gas equation of state is accepted for the vapor at reduced pressure):

$$k_p = k \cdot \frac{R}{M_v} (T_S + 273.15) \quad [24]$$

D_B is the bubble diameter calculated by relation [7], and D_{AB} is the diffusivity coefficient converted by the relation:

$$D_{AB} = D_{AB}^0 \left(\frac{p_0}{p_{SL}} \right) \left(\frac{T_{SL} + 273.15}{T_0} \right)^{3/2} \quad [25]$$

where: D_{AB}^0 – the standard conditions diffusivity coefficient, for our case $D_{AB}^0 = 25.1 \times 10^{-5} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ (value is accepted for the diffusion between water and air)

- p_0 – standard atmospheric pressure 101.325 kPa
- p_{SL} – mean absolute pressure inside the linear section
- T_0 – normal temperature 273.15 K
- T_{SL} – mean temperature in the linear section

$$\text{Re}_B = \frac{u_B \cdot D_B \cdot \rho}{\mu} \quad [26]$$

In that relation u_B is the bubble velocity calculated by using the relevant relation [14], [15], or [16].

$$\text{Sc} = \frac{\mu}{D_{AB} \cdot \rho} \quad [27]$$

The experimental data transferred into dimensionless criteria were used for regression and free parameters of equation [22] were predicted:

$$a_0 = 0.0145 \quad a_1 = 0.6279 \quad R^2 = 0.2683$$

Fig. 3 shows that all measurements made by Podloučký are shifted toward much lower values of $\text{Sh}/\text{Sc}^{1/3}$. Values of Re_B are similar for both data files. It is caused by the

dimension simplex absence in equation [22]. As measurements differ primarily in the level of fluid L in the cooker and the bubble size is nearly the same, we introduce a dimensionless criterion L/D_B into equation [22]. This criterion was used by HOFFMAN (1973) in his thesis dealing with boiling of fluids. The criterion takes into account also the hydrostatic depression influence. The dimensionless criterion equation is now reformulated:

$$\text{Sh} = a_0 \cdot \text{Re}_B^{a_1} \cdot \text{Sc}^{1/3} \cdot \left(\frac{L}{D_B} \right)^{a_2} \quad [28]$$

Values $a_0 = 0.9092$, $a_1 = 0.4677$, $a_2 = -1.1314$, $R^2 = 0.986$ were assessed by repeated regression.

The received regression parameters are in a good agreement with expected values of exponents for similar cases of mass transfer, see equations [20] and [21]. The validity ranges of individual criteria are:

$$25 < \text{Re}_B < 1700 \quad 0.002 < \text{Sc} < 0.2 \quad 5 < \frac{L}{D_B} < 333$$

It is apparent from Figs. 4 and 5 that there is a reasonable agreement between experimental data and proposed model [28]. The comparison of Sherwood criteria experimental values with predictions given by relation [28] is performed in Fig. 6. It is evident that the very good agreement has been reached (exceptions are the data obtained with very small volumes of water).

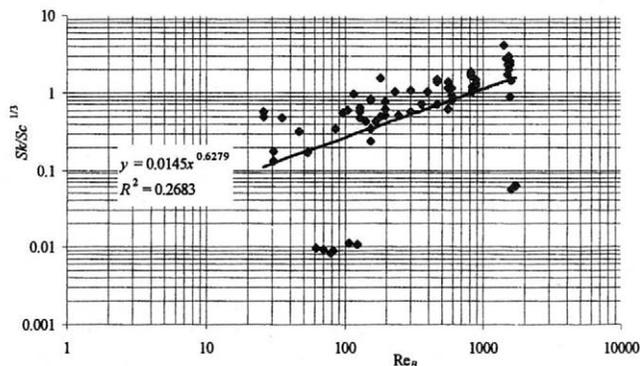


Fig. 3. The dependence of Sherwood and Schmidt criteria complex on Reynolds criteria

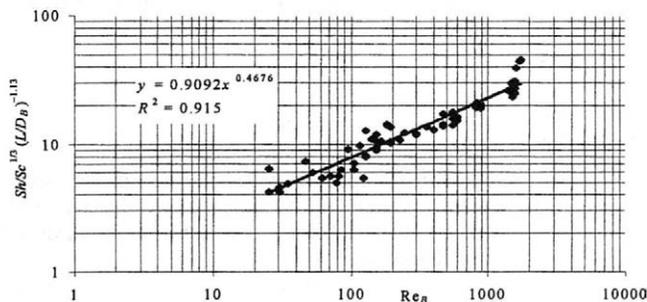


Fig. 4. The correlation of Sherwood, Schmidt and geometrical criteria complex plotted against Reynolds criterion

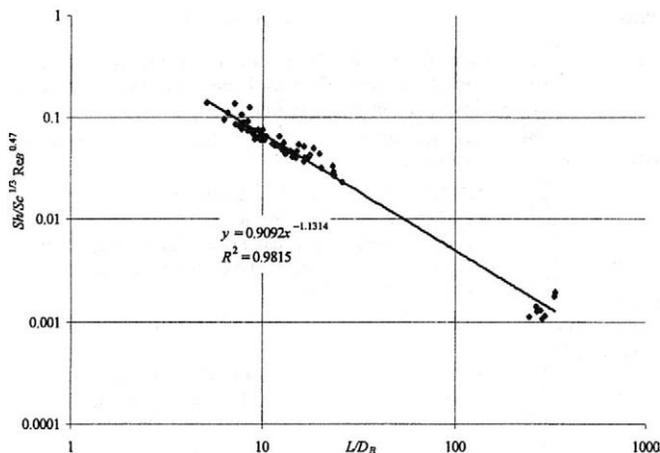


Fig. 5. The correlation of Sherwood, Schmidt and Reynolds criteria complex plotted against geometrical criteria

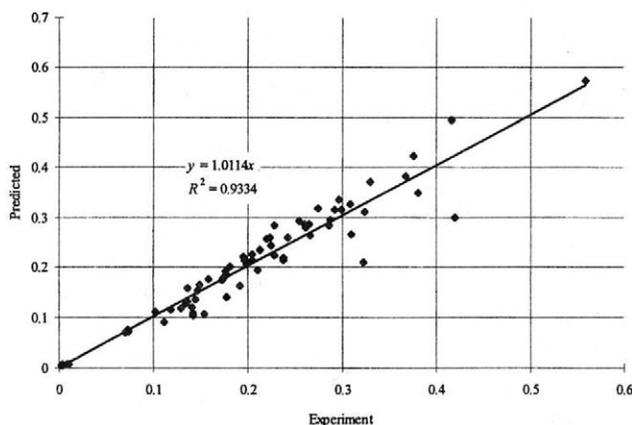


Fig. 6. Comparison of calculated and experimental values of Sherwood criteria, relation [28] (evaluation of accuracy)

CONCLUSION

The mass transfer coefficient for vacuum cooling of Newtonian fluids can be calculated from developed dimensionless equation [28] with reasonable accuracy. This model represents very well the dependence of mass transfer coefficient on properties of cooled fluid in spite of the introduction of several simplifying assumptions.

Product $k.S$ is the major parameter influencing the speed of vacuum cooling. This parameter is necessary for the design of equipment, for instance by using a computational program described by PODLOUCKÝ (1994). The program is the application of a mathematical model of the process and by using it we can avoid the construction of costly pilot plant equipment. Model [28], which we recommend for application, also describes the influence of the surface tension of cooled fluid and is valid for the Newtonian flow behaviour of cooled fluid.

Acknowledgements

The authors of the paper thank Dr. Ing. MARTIN DOSTÁL for programming of the software for experimental data reading and for the technical support.

List of symbols

C_D	friction factor	[-]
C_m	mass concentration	[%]
D_{AB}	diffusivity	[m ² .s ⁻¹]
D_{AB}^0	coefficient of volume diffusion under standard conditions	[m ² .s ⁻¹]
D_B	bubble diameter	[m]
dm	mass decrease of the batch	[kg]
D_n	vessel diameter	[m]
dQ	quantum of heat taken away from the batch	[J]
dt	time step	[s]
dT	batch temperature decrease within time step	[°C]
g	acceleration of gravity	[m.s ⁻²]
k	mass transfer coefficient	[kg.s ⁻¹ .m ⁻² .Pa ⁻¹]
k_p	mass transfer coefficient	[m.s ⁻¹]
L	liquid height in the cooker	[m]
L_B	bubble path	[m]
m_i	instantaneous batch mass	[kg]
M	molar mass	[kg.kmol ⁻¹]
m_0	initial batch mass	[kg]
m_L	mass of water evaporated within linear section	[kg]
M_w	molar water mass	[kg.kmol ⁻¹]
\dot{m}_{ef}	effective mass flow	[kg.s ⁻¹]

\dot{m}_L	mass flow of vapour within linear section, see Fig. 1	[kg.s ⁻¹]
\dot{n}_B	number of bubbles of vapour per second ("bubble flow")	[s ⁻¹]
n_B	number of bubbles	[-]
p	total pressure above liquid surface	[Pa]
P	pressure of saturated water vapor at batch temperature	[Pa]
p''	saturated water vapor pressure	[Pa]
p_a	atmospheric pressure	[Pa]
P_0	standard pressure	[Pa]
P_k	critical pressure	[Pa]
P_{SL}	mean absolute pressure in linear section	[Pa]
r	evaporation heat	[J.kg ⁻¹]
R	universal gas constant	[J.kmol ⁻¹ .K ⁻¹]
R^2	coefficient of correlation	[-]
Re_B	Reynolds number by relation [26]	[-]
S	interfacial area	[m ²]
Sc	Schmidt number	[-]
Sh	Sherwood number	[-]
S_n	cross-sectional area of vessel	[m ²]
t	time	[s]
T	instantaneous batch temperature	[°C]
T_0	standard temperature	273.15 K
t_L	period of linear section, see Fig. 1	[s]
t_{proc}	period of process	[s]
T_{SL}	mean temperature in linear section	[°C]
t_z	detention period	[s]
u_B	bubble climbing velocity	[m.s ⁻¹]
v	specific volume	[m ³ .kg ⁻¹]
V	batch volume	[m ³]
V_B	bubble volume	[m ³]
\dot{V}	volumetric flow of vapor	[m ³ .s ⁻¹]
ρ	batch fluid density at T_{SL}	[kg.m ⁻³]
ρ''	batch vapor density at T_{SL}	[kg.m ⁻³]
μ	dynamic viscosity of fluid in batch at T_{SL}	[Pa.s]
σ	fluid surface tension at T_{SL}	[N.m ⁻¹]

References

- BARTOŠ P. (1998): Vakuové chlazení kapalin. [MSc thesis No. 98203.] Institute of Process Engineering, Faculty of Mechanical Engineering, CTU, Prague.
- BRETSCHNEIDER R. *et al.* (1975): Cukrovarnické tabulky. Praha, SNTL.
- BURFOOT D., HAYDEN R. (1989): Simulation of a pressure cook/water and vacuum cooled processing system. In: FIELD R. W., HOWELL J. A. (Eds): Process Engineering in the Food Industry – Developments and Opportunities. Barking, Elsevier Sci. Publ.: 27–41.
- DITL P. (1996): Difúzní separační pochody. Prague, Edit Center CTU.
- DITL P., ŠULC R. (1998): Evaporation from superheated solutions. In: Proc. Workshop 98 – Section of Mechanics and Thermodynamics. CTU Prague: 525–526.
- HOFFMAN P. (1973): Var v úzké šterbině. [PhD thesis.] CTU, Prague.
- NOVÁK V., RIEGER F. (1994): Hydraulické pochody. Prague, Edit Center CTU.
- PODLOUCKÝ Š. (1994): Vakuové chlazení potravin. [MSc thesis.] Prague, CTU.
- ŠESTÁK J. *et al.* (1984): Tepelné pochody – transportní a termodynamická data. Prague, Edit Center CTU.
- ŠESTÁK J., ŽITNÝ R. (1997): Tepelné pochody II. Prague, Edit Center CTU.

Received for publication January 29, 1999

Accepted for publication June 18, 1999

Souhrn

BARTOŠ P., HOUŠKA M., HOFFMAN P., KÝHOS K., ŠESTÁK J. (1999): Součinitel přenosu hmoty při vakuovém chlazení kapalin. Czech J. Food Sci., 17: 204–210.

Byl stanovován součinitel přenosu hmoty při varu newtonských kapalin vyvolaném snížením tlaku, tj. při jejich vakuovém chlazení. Výsledky experimentů byly korelovány do tvaru kritériální rovnice obsahující Sherwoodovo, Reynoldsovo a Schmidtovo kritérium, doplněné poměrem výšky sloupce kapaliny v nádobě a středního průměru parních bublinek pohybujících se kapalinou vzhůru k hladině. Výsledná korelace je doplněna jednoduchou teorií stanovení velikosti mezifázového rozhraní. Výsledky práce lze použít k predikci součinitele přenosu hmoty potřebného pro dimenzování zařízení, které slouží k vakuovému chlazení kapalných newtonských potravin, a pro matematické modelování procesu.

Klíčová slova: součinitel přenosu hmoty; vakuové chlazení; kapaliny

Corresponding author:

Ing. MILAN HOUŠKA, CSc., Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha10-Hostivař, Česká republika, tel.: + 420 2 70 23 31, fax: + 420 0 70 19 83, e-mail: m.houska@vupp.cz

Initial Freezing Temperature of Various Foods with Special Reference to Fruit Juices and Concentrates and to Grapes

ANGUEL G. FIKIIN and KOSTADIN A. FIKIIN

Technical University of Sofia – Refrigeration Science and Technology Division, Sofia, Bulgaria

Abstract

FIKIIN A. G., FIKIIN K. A. (1999): Initial freezing temperature of various foods with special reference to fruit juices and concentrates and to grapes. Czech J. Food Sci., 17: 211–215.

The paper presents a set of experimental engineering data on the initial freezing point of various food materials of plant or animal origin, including fruits, vegetables and meats, as well as meat, dairy and poultry products. Special attention is devoted to fruit juices and concentrates and to grapes. Predictive relationships are established between their initial freezing temperatures and the dry matter (or carbohydrate) content. The results obtained can be used for accurate prediction of the thermal properties and behaviour of frozen foods during production, storage and distribution, as well as for selecting appropriate temperature regimes during refrigerated storage of chilled foods.

Key words: food refrigeration; freezing point; refrigerated storage; thermophysical properties; heat transfer

Good knowledge of the initial freezing (cryoscopic) temperature of food products has an extraordinary importance for food science and technology. The initial freezing point is a fundamental thermophysical parameter with enormous significance when analysing the entire system of food thermal properties and the heat transfer processes taking place during food refrigeration. Freezing temperature input values are required as a starting point in a series of key thermophysical computational relationships. Moreover, this is a determinant factor when establishing the most suitable temperature regimes for long-term refrigerated storage of chilled foods.

Hence, the present paper aims to provide a collection of experimental data on the cryoscopic temperature of various food materials by summarising and further development of previous and recent authors' investigations in that field (FIKIIN 1962, 1980; FIKIIN *et al.* 1970; FIKIIN & FIKIIN 1995; FIKIIN & KUZMANOVA 1970).

MATERIAL AND METHODS

The initial freezing temperature was measured by registration of the typical plateaux on the recorded temperature histories during slow freezing of food samples at an ambient air temperature of -20°C . The temperature of supercooling was registered as the lowest point in the time-temperature curves before the start of freezing. The samples had cubic or spherical shapes with an edge or diameter of about 4 cm. The fruits and vegetables to be studied were chosen in their natural dimensions. Ten representa-

tive samples were selected from ten standard batches of each studied food commodity. Copper-constant thermocouples were used as temperature sensors and the maximum error of the temperature recorder was 0.05°C . The differences between the measured cryoscopic temperatures of different samples did not exceed 0.5°C .

RESULTS AND DISCUSSION

Experimental Data for the Initial Freezing Temperature of Various Foodstuffs

As is known, the depression of the food freezing point with respect to that of pure water may qualitatively be explained by the Raoult's Law, which unfortunately possesses a restricted validity. This Law can accurately predict initial freezing temperatures of ideal, highly diluted non-electrolytic solutions only, but it is not exact for real foods where the physical situation is much more complicated. The water, present in them, enters into very complex physico-chemical structural interactions, quite specific for the different products. The experimental measurements remain, therefore, the only reliable and indispensable way for accurate determination of the food cryoscopic temperature.

Our measurements showed an initial freezing temperature of about -1°C for the majority of the studied food products. This varied from -0.6 to -1.2°C for different kinds of meat, from -0.5 to -1°C for freshwater fish, from -0.9 to -2.2°C for sea and ocean fish, while for white and yolk of egg the cryoscopic values were -0.45 and -0.65°C ,

respectively. For the majority of fruits and vegetables the freezing point is about -1°C and rarely decreases down to -2°C . The presence of dissociated salts, acids, carbohydrates, etc., considerably lowers the initial freezing temperature. For instance, this reaches -4.95°C for grapes, -4°C for morellos, -8°C for yellow cheese Kashkaval and -11°C for white brined cheese.

Table 1 presents our experimental data on the initial freezing temperatures of a number of popular products, widespread on the Bulgarian and international food markets.

Because of the specific structural peculiarities and the presence of various dissociated salts, acids, carbohydrates, etc., unfortunately, it is not possible to derive a single functional relationship, universal relationship functional, for all products, between the moisture (or dry matter) content and the cryoscopic temperature, which is a very attractive idea for the engineer. Such a relation could be obtained only for one and the same product with varying moisture content or for a group of products with qualitatively close chemical compositions and structures. For

Table 1. Initial freezing temperatures and dry substance contents for various foodstuffs

Kind of product	t_{cr} [$^{\circ}\text{C}$]	ξ [%]	Kind of product	t_{cr} [$^{\circ}\text{C}$]	ξ [%]
Fruits			Meat and meat products		
Apricots			Beef		
Hungarian	-1.40	11.5	Medium fat class	-1.1	28.0
Louisette	-1.50	12.0	Fat	-1.1	38.0
Cherries (A)	-1.95	12.9	Corned beef		
Cherries (B)	-2.05	14.1	Sazdarma (A)	-6.6	64.9
Grapes			Sazdarma (B)	-6.4	60.0
Bulgar	-4.55	23.5	Flat sausage		
Hamburg Muscat	-4.30	24.1	Loukanka (A)	-8.0	73.3
Blueberries	-1.50	11.5	Loukanka (B)	-7.1	70.0
Cranberries	-1.20	10.9	Goose meat	-0.9	46.0
Morellos (A)	-2.90	15.1	Poultry	-0.8	26.1
Morellos (B)	-3.10	16.0	Kidneys		
Peaches			Mutton	-1.1	26.1
Marygold	-1.30	10.5	Pork	-1.0	23.9
Carmen	-1.45	12.5	Larded sausage (A)	-7.2	70.0
Henriette	-1.50	15.0	Larded Sausage (B)	-7.5	72.5
Halle	-1.45	13.2	Liver		
Plums			Veal	-0.9	28.0
Hungarian	-1.95	16.9	Pork	-1.0	29.0
Ontario	-1.90	16.0	Mutton		
Queen Victoria	-2.00	20.0	Medium fat class	-1.2	44.0
Raspberries (A)	-1.20	11.8	Fat	-1.2	49.9
Raspberries (B)	-1.55	12.3	Pork		
Strawberries			Medium fat class	-1.0	42.0
Madame Mouteau	-0.90	8.0	Fat	-1.0	55.1
Sharpless	-0.95	8.6	Veal		
Vegetables			Lean	-0.9	25.0
Beans			Fat	-0.9	30.9
Stara Zagora	-1.10	8.0	Dairy Products		
Sax	-1.20	9.1	Cheese		
Carrots			White brined	-10.0	48.0
Paris	-1.20	14.0	White Feta	-11.0	52.5
Nancy	-1.10	8.1	Yellow (Kashkaval)		
Pepper			Vitoshka	-7.0	57.5
Kapia	-1.30	10.0	Polish	-8.0	64.0
Sivria	-1.20	6.2	Balkan	-7.5	60.0
Tomatoes			Curds (A)	-1.1	27.0
Rogers	-0.70	5.0	Curds (B)	-1.0	24.0
Plovdiv Can	-0.80	7.1	Poultry products		
			Mixed eggs (A)	-0.5	26.0
			Mixed eggs (B)	-0.5	28.0

A and B denote different lots of one and the same product with two different dry substance contents.

example, the following equation is proposed for minced beef (TOCCI & MASCHERONI 1994):

$$t_{cr} = (1 - \varphi) / (0.06908 - 0.4393 \varphi) \quad [1]$$

MILES *et al.* (1997) and MAYER and HOUŠKA (1997) recently correlated the initial freezing point with a more detailed chemical composition dataset (with particular emphasis on water; monosaccharides; disaccharides; lactic, malic, citric, isocitric, acetic, tartaric and oxalic acids;

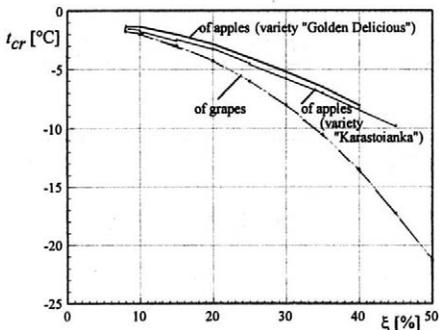


Fig. 1. Cryoscopic temperature of juices and concentrates of apples (varieties Karastoiianka and Golden Delicious) and of grapes

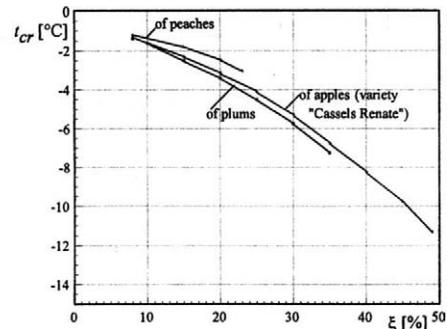


Fig. 2. Cryoscopic temperature of juices and concentrates of plums, peaches and apples (variety Cassels Renate)

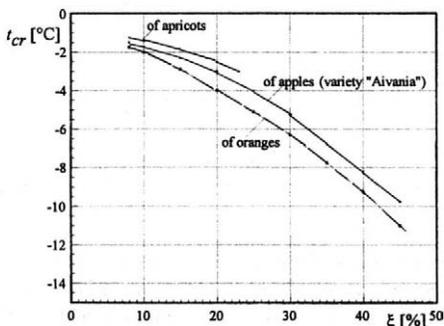


Fig. 3. Cryoscopic temperature of juices and concentrates of apricots, oranges and apples (variety Aivania)

alcohol and microelements – Na, K, Ca, Mg, Fe, P and Cl). Their analysis is based on the Raoult's Law for freezing point depression of multicomponent solutions and can serve as a good first approximation when there are no reliable experimental data for cryoscopic temperatures of the studied products.

Initial Freezing Temperature of Fruit Juices and Concentrates

Functional relations between the cryoscopic temperature and the dry matter concentration were established for a number of fruit juices and concentrates. For that purpose our experimental results, shown in Figs. 1–3, were used as a starting point.

It is obvious (Figs. 1–3) that for all studied kinds of fruit juices and concentrates the initial freezing temperature decreases with the dry matter concentration in conformity with a parabolic pattern of change. Hence, the resulting functional relationship is:

$$t_{cr} = a\xi^2 + b\xi + c \quad [2]$$

where a , b , c are food-specific coefficients presented in Table 2 for various fruit juices and concentrates. Besides, $5\% \leq \xi \leq 50\%$ for juices and concentrates of apples, grapes, oranges and plums, whereas $5\% \leq \xi \leq 23\%$ for juices and concentrates of apricots and peaches.

These experimental results are important, in particular, for the processes of freeze concentration of fruit juices and further refrigerated storage of fruit concentrates.

Initial Freezing Temperature of Grapes

In an analogous way, the dependence between the cryoscopic temperature and the concentration of dry substances or carbohydrates was examined for two varieties of grapes in two different states of the experimental material (grapes and homogeneous squash, i.e., must). The experimental data obtained are shown on Figs. 4 and 5.

The data analysis yields the following simple linear relations:

$$t_{cr} = a\xi + b \quad [3]$$

or

$$t_{cr} = c\xi_c + d \quad [4]$$

where for the variety Bulgar $a = -0.250$, $b = 1.317$, $c = -0.180$ and $d = -0.146$, while for the variety Hamburg Muscat $a = -0.180$, $b = 0.014$, $c = -0.180$ and $d = -0.034$. Besides, for Bulgar variety $14.50\% \leq \xi \leq 25\%$ and $17.78\% \leq \xi_c \leq 21\%$, while for variety Hamburg Muscat $13\% \leq \xi \leq 23.60\%$ and $18.50 \leq \xi_c \leq 21\%$. Equations [3] and [4] fit in well (within 3%) with the experimental freezing point values.

Figs. 4 and 5 suggest that no sufficiently accurate relationship could be established between the temperature of supercooling and the concentration of dry substances (or carbohydrates) in grapes, like it was done for the cryoscopic temperature. Our researches show that the temperature of supercooling strongly depends not only upon

Table 2. Values of the coefficients a , b and c of equation [2] for different kinds of juices and concentrates

Product kind	a	b	c
Apple juices and concentrates from the varieties:			
Aivania	-0.0036	-0.041	-0.83
Cassels Renate	-0.0033	-0.051	-0.76
Karastoianka	-0.0030	-0.068	-0.82
Golden Delicious	-0.0035	-0.044	-0.66
Grape juice and concentrate	-0.0050	0.068	-1.78
Orange juice and concentrate	-0.0020	-0.140	-0.30
Plum juice and concentrate	-0.0025	-0.100	-0.35
Apricot juice and concentrate	0.0000	-0.120	-0.20
Peaches juice and concentrate	0.0000	-0.120	-0.10

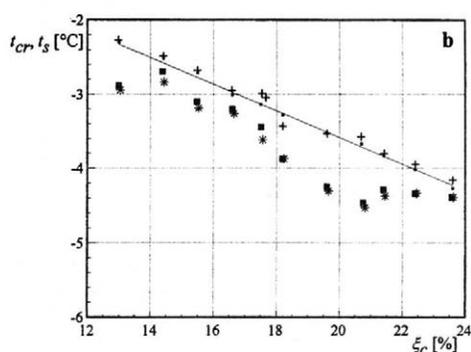
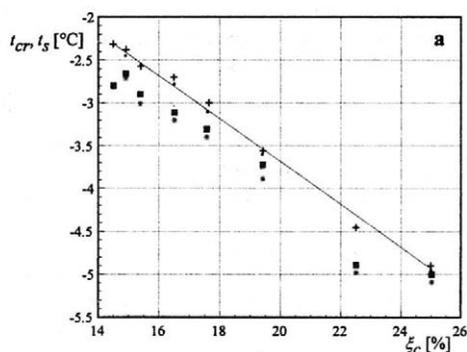


Fig. 4. Cryoscopic temperature (+ of grapes; ■ of homogeneous squash; — according to equation [3]) and temperature of supercooling (* of grapes; ■ of homogeneous squash) versus the dry substance content: (a) variety Bulgar; (b) variety Hamburg Muscat

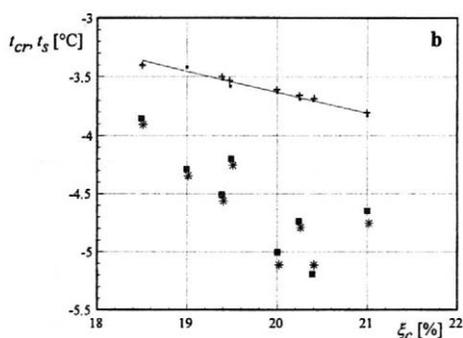
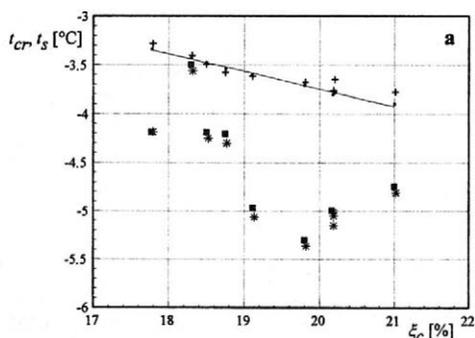


Fig. 5. Cryoscopic temperature (+ of grapes; ■ of homogeneous squash; — according to equation [4]) and temperature of supercooling (* of grapes; ■ of homogeneous squash) versus the carbohydrate content: (a) variety Bulgar; (b) variety Hamburg Muscat

the content of dry substances and various carbohydrates but also on the fruit sizes and cellular structure, refrigerating rate, etc.

The results obtained for the initial freezing temperature enabled us to develop and implement a novel technolo-

gy for long-term cold storage of grapes at $-2 \dots -2.5^\circ\text{C}$ with periodic gassing by SO_2 (FIKIIN *et al.* 1979). Thus, a high-quality preservation of grapes in fresh state can be ensured during a six-month period (from the harvesting season in September until the end of March).

CONCLUSION

Numerous data on the cryoscopic temperature of foods exist in the literature (DISKERSON 1968; ASHRAE Handbook 1990; MIRONNEAU 1961). However, there is sometimes mutual inconsistency between the values reported by different authors for one and the same product. For instance, the ASHRAE Handbook (1990) quotes a great number of freezing points, mainly for American products, some of which differ significantly from the commonly accepted classical reference results.

It is believed that the present contribution makes a further step in advancing the current state of the art and the engineering tools for accurate prediction of the initial freezing temperature when processing, storing and distributing refrigerated foods and beverages.

List of symbols

t_{cr}	cryoscopic (initial freezing) temperature	[°C]
t_s	temperature of supercooling	[°C]
ξ	dry substance content	[%]
ξ_c	content of carbohydrates	[%]
φ	moisture content	[kg _{water} /kg _{product}]

References

- ASHRAE Handbook (1990): Refrigeration Systems and Applications. Chapters 18 and 26, Atlanta, Georgia, American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers, Inc.
- DICKERSON R. W. Jr. (1968): Thermal properties of foods. In: TRESSLER D. K. *et al.* (Eds.): The Freezing Preservation of Foods. Vol. 2, Westport, Connecticut, AVI Publ. Comp., Inc.: 26–51.
- FIKIIN A. G. (1962): On the cryoscopic temperature of food products. Scientific Works of the Higher Institute of Food Industry – Plovdiv, 9: 177–182 (in Bulgarian).
- FIKIIN A. G. (1980): Refrigeration Technological Processes and Systems. Sofia, State Publ. Comp. Tehnika (in Bulgarian).
- FIKIIN A. G., FIKIIN K. A. (1995): Modelling of thermal properties and behaviour of foods during production, storage and distribution. Scientific Report No. 6, Sofia, Bulgaria, EU PECO Project CIPA CT93 0240.
- FIKIIN A. G., FIKIINA I. K., KUZMANOVA E. P. (1970): Functional relationship between cryoscopic temperature and concentration of fruit juices. Scientific Works of the Higher Institute of Food Industry – Plovdiv, 17(Part 2): 27–32 (in Bulgarian).
- FIKIIN A. G., KUZMANOVA E. P. (1970): Cryoscopic temperature of grapes in dependence on the cellular juice concentration. Scientific Works of the Higher Institute of Food Industry – Plovdiv, 17 (Part 2): 19–25 (in Bulgarian).
- FIKIIN A. G., KALINOV V. K., GUEGOV J. P. (1979): Changes biochimiques et technologie optimale de l'entreposage frigorifique des raisins de table. In: Proc. 15th Int. Congr. Refrigeration, Venice, Italy.
- MAYER Z., HOUŠKA M. (1997): Initial freezing point vs. composition of fruits. Potravn. Vědy, 15: 329–342.
- MILES C. A., MAYER Z., MORLEY M. J., HOUŠKA M. (1997): Estimating the initial freezing point of foods from composition data. Int. J. Food Sci. Technol., 32: 389–400.
- MIRONNEAU L. (1961): Manuel du Frigoriste, Tome 2: Applications du Froid. Paris, J.-B. Baillière et Fils.
- TOCCI A. M., MASCHERONI R. H. (1994): Freezing times of meat balls in belt freezers: experimental determination and prediction by different methods. Int. J. Refrigeration, 17: 445–452.

Received for publication March 1, 1999

Accepted for publication June 16, 1999

Souhrn

FIKIIN A. G., FIKIIN K. A. (1999): Počáteční bod tuhnutí různých potravin se zvláštním zaměřením na ovocné džusy a koncentráty a hroznovou šťávu. Czech J. Food Sci., 17: 211–215.

V práci jsou uvedeny experimentální hodnoty počátečního bodu tuhnutí různých potravin rostlinného a živočišného původu (ovoce, zelenina, maso, masné, mléčné a drůbeží výrobky). Zvláštní pozornost je věnována ovocným džusům a koncentrátům a hroznové šťávě. Byl stanoven predikční vztah mezi počátečním bodem tuhnutí a obsahem sušiny (nebo cukru). Získané výsledky mohou být použity pro přesnou předpověď tepelných vlastností a chování mražených potravin během výroby, skladování a distribuce, ale také pro volbu vhodného teplotního režimu během skladování chlazených potravin v chladničce.

Klíčová slova: mražené potraviny; bod tuhnutí; skladování v chladničce; termofyzikální vlastnosti; přenos teploty

Corresponding author:

Prof. Dr. ANGUEL FIKIIN, Ph.D., D.Sc., Technical University of Sofia, Refrigeration Division, 95 Vassil Levski Blvd, BG-1000 Sofia, Bulgaria, tel./fax: + 359 2 88 48 16, e-mail: agf@vmei.acad.bg

Stanovení celkového počtu psychrotrofních bakterií v bazénových vzorcích mléka a jejich vztah k celkovému počtu mikroorganismů*

MARCELA VYLETĚLOVÁ¹, PAVEL BENDA¹, OTO HANUŠ¹, PAVEL KOPUNECZ²

¹Research Institute for Cattle Breeding, Rapotín; ²Central laboratory, Pardubice, Czech Republic

Abstract

VYLETĚLOVÁ M., BENDA P., HANUŠ O., KOPUNECZ P. (1999): Determination of total counts of psychrotrophic bacteria in pool milk samples and their relation to total counts of microorganisms. Czech J. Food Sci., 17: 216–222.

Determination of total psychrotrophic microorganisms (CPP) and identification and specification of relationships between CPP and some accompanying factors were the principal objectives of the study. Three sets of pool milk samples were analyzed in total. The first consisted of 85 routinely collected and transported pool milk samples from northern Moravia and central Moravia. Sample collection was realized within one day by transport dairy lines. Samples were preserved with Heesch agent. The 2nd sample set – 163 unpreserved samples of one enterprise collected at three localities – was compiled in 1997. Samples were collected and transported by the mentioned enterprise. Besides CPP analysis, total counts of mesophilic bacteria (CPM) were determined in the two sets. Samples were diluted with sterile physiological solution (0.85%) and cultivated by the plate method under standard conditions (30 °C/3 days for CPM; 6.5 °C/10 days for CPP) using conventional media (GTK, Milcom Tábor). Plates characterized by colony number ranging from 20 to 200 CFU/ml were accepted. The 3rd (the largest and most relevant) sample set furnished by the Central Laboratory Pardubice (4754 CPM a CPP data compiled throughout 1997) was evaluated statistically. In the 1st set, total count of psychrotrophic bacteria and total count of mesophilic bacteria varied from 1×10^2 to 2.2×10^5 CFU/ml and from 1×10^3 to 3.1×10^5 CFU/ml, respectively. The 2nd sample set was characterized by CPP range 1×10^2 – 1.4×10^5 CFU/ml and CPM range 1×10^3 – 4×10^5 CFU/ml. In the 3rd set, CPP and CPM varied from 1×10^3 to 2×10^6 CFU/ml and from 5×10^3 to 3.2×10^6 CFU/ml, respectively. The relative index p_i (ratio between the real values of CPP and CPM in one sample) was calculated for all samples in the three mentioned sets. The following p_i values were found in specific sets: 0.13 (1st set), 0.35 (2nd set), 0.24 (3rd set) – Table 1. The mentioned results were processed statistically. A highly significant rate of correlation ($r = 0.96$, Fig. 1) was found between CPP and CPM in the 1st set. A substantially lower correlation ($r = 0.61$, Fig. 2) was recorded in the 2nd set. The mentioned difference can be attributed to the different methods of sampling and transport. Samples collected in the 2nd set were not preserved and they were transported out of the thermobox. The results of 3rd set from Pardubice Central Laboratory showed the rate of correlation $r = 0.63$ (Fig. 3). Differences between the 1st set and the 3rd set can be caused by various methods of CPM analysis. In Central Laboratory, Bactoscan is used for analysis instead of our conventional plate method. Problems approaching microbial quality of milk are closely related to harmonization of Czech standards with EU directives, introduction of HACCP systems, and exacting technological programs of some dairies (e.g. cheese production). Relations between mean microbiological quality of produced milk and corresponding variability of microbiological parameters (CPM and CPP), i.e., between hygienic level and technological repeatability of milking process, and cowshed parameters were studied as well. KHR (consolidated hygienic regimen) point on the hypothetic graph (Fig. 6) shows reduced microbial pressure of the environment, satisfactory operating parameters guaranteed by milk producers, and hypothesized reduced incidence of milk secretion disorders. Highly significant rate of correlation in the two controlled microbial sets (CPM and CPP) $r = 0.94$ (Figs. 4 and 5) suggests a close correlation between the hygienic regimen and the operating parameters. Table 2 demonstrates examples of possible practical interpretation of results in HACCP construction or in consulting activity associated with positive modification of milk microbial quality in problematic herds and cowsheds. All correlation coefficients calculated in this paper were significant at the level $P < 0.001$.

Key words: milk; total psychrotrophic microorganisms (CPP); total count of mesophilic bacteria (CPM); correlation coefficient

*Řešeno v rámci výzkumného úkolu NAZV MZe ČR č. EP 7154.

Abstrakt

VYLETĚLOVÁ M., BENDA P., HANUŠ O., KOPUNECZ P. (1999): Stanovení celkového počtu psychrotrofních bakterií v bazénových vzorcích mléka a jejich vztah k celkovému počtu mikroorganismů. Czech J. Food Sci., 17: 216–222.

Identifikovali jsme vztahy celkového počtu psychrotrofních mikroorganismů (CPP) k některým doprovodným faktorům. CPP byl stanoven jednak ve standardně odebraných a transportovaných bazénových vzorcích mléka ze svazné oblasti severní a střední Moravy, jednak ve vzorcích jednoho podniku v průběhu roku 1997. Současně s CPP byl stanoven celkový počet mezofilních mikroorganismů (CPM). Vzorky byly kultivovány na běžně používaných médiích za standardních podmínek podle norem IDF. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny a pro standardně odebraný, transportovaný a analyzovaný soubor byla zjištěna vysoce významná korelace mezi CPP a CPM ($r = 0,96$). Ve druhém sledovaném souboru vzorků dosahovala korelace podstatně nižších hodnot ($r = 0,61$). Mezi reálnými hodnotami CPP a CPM byl pro každý vzorek vypočten poměrný index p_i . Pro standardně ošetřený soubor vzorků činil $p_i = 0,13$; v případě vzorků jednoho podniku jsme našli $p_i = 0,35$. Dále byl statisticky vyhodnocen rozsáhlý soubor vzorků z Centrální laboratoře Pardubice. Měření CPM zde byla provedena na přístroji Bactoscan a CPP totožnou uvedenou metodou. Korelační koeficient v tomto případě činil $r = 0,63$ a poměrný index $p_i = 0,24$. Otázka mikrobiální kvality mléka úzce souvisí s harmonizací našich předpisů s EU, zaváděním HACCP systémů a náročným technologickým zaměřením některých mlékáren (např. výroba sýrů). Dalším cílem bylo tedy zjistit vztah mezi variabilitou mikrobiologických hodnot (CPM a CPP) podniků a průměrnou mikrobiologickou kvalitou mléka, jinak řečeno mezi technologickou opakovatelností dojičného procesu i stavu stáje a dlouhodobou hygienickou úrovní stáje. Korelační koeficient pro oba sledované mikrobiologické soubory (CPM a CPP) činil shodně $r = 0,94$. Všechny vypočtené korelační koeficienty byly statisticky významné na hladině $P < 0,001$.

Klíčová slova: mléko; celkový počet psychrotrofních mikroorganismů (CPP); celkový počet mezofilních mikroorganismů (CPM); korelační koeficient

Psychrotrofní mikroorganismy jsou schopné růstu a metabolických projevů i při nízkých teplotách 4 °C. Při této teplotě je mléko uchováváno v mléčnicích, při přepravě ke zpracovateli i v době skladování a distribuce hotových výrobků. Vzhledem k tomu, že nízké teploty neinhibují tvorbu a činnost enzymatických systémů proteas a lipas, může dojít ke změnám struktur bílkovin a tuků, zvláště pak po delší době skladování suroviny a produktů (LAW 1979; URBANOVÁ 1993; HUŠEK 1988).

Uvedené procesy pak přispívají ke znehodnocení mléčné suroviny a znemožňují tím její další zpracování (JASPE *et al.* 1994; KRATOCHVÍL 1992; MUIR & PHILIPS 1984). Nejčastějšími zástupci jsou bakterie rodu *Pseudomonas* (MUIR *et al.* 1979; TERNSTRÖM *et al.* 1993; URBANOVÁ & PÁČOVÁ 1995), které mohou být i příčinou infekčního onemocnění (KOHÚT & RUSINKO 1978; MÍČKOVÁ *et al.* 1989).

Podle ČSN 57 0529 je jedním z ukazatelů kvality mléka určení celkového počtu mikroorganismů (dále jen CPM). Vedle toho je doplňkovým znakem mikrobiologické jakosti i stanovení celkového počtu psychrotrofních mikroorganismů (dále jen CPP); norma připouští CPP $\leq 50\,000$ CFU/ml, CPM $\leq 100\,000$ CFU/ml pro standardní mléko a CPM $\leq 50\,000$ CFU/ml pro výběrovou kvalitu (KADLEC *et al.* 1997).

Ve specifických případech požadují některé mlékárenské podniky vyšetření na obě uvedené skupiny mikroorganismů vzhledem ke svému technologickému zaměření a pro určení kvality mléka za účelem proplácení. MUIR, PHILIPS (1984) dokonce uvádějí, že pro výrobu některých sýrů musí být hodnota CPP nižší než 2×10^3 CFU/ml. Problematika mikrobiologické kvality mléka jako suroviny nabývá na významu zejména v souvislosti:

- s harmonizací našich hygienických standardů s předpisy EU (92/46/EU Milk and milk products quality);
- se zaváděním kontrolních systémů (HACCP – Hazard Analysis Critical of Control Points) v potravinářském prostředí jako oficiálně schválené metodiky EU v rámci filozofie preference maximální možné ochrany zdraví spotřebitele (BER 1998);
- se všeobecně vzrůstajícím podílem mléka zpracovávaného na náročné mlékárenské výrobky, především sýry (např. v České republice byl nárůst výroby sýrů v roce 1997 13 % po podobném meziročním nárůstu v roce 1996, a to při celkové klesající produkci mléka (KŘÍ-VÁNEK 1998)).

Cílem práce bylo zabývat se mikrobiologickými aspekty produkce mléka, vztahy mezi technologickými skupinami mikroorganismů i uvnitř těchto skupin.

MATERIÁL A METODY

Ke konzervaci vzorků bylo použito běžné konzervační Heeschenovo činidlo (HEESCHEN *et al.* 1969; PETTIPHER & RODRIGUES 1982) v poměru 1 : 10. Do sterilních vzorkovnic jsme napipetovali 3 ml Heeschenova činidla a nechali je vysušit přes noc při teplotě 60 °C.

Odběr prvního souboru vzorků probíhal během jednoho dne ve dvou termínech (ráno a odpoledne) vyškolenými pracovníky mlékárny. Vzorky se přepravovaly v termoboxech s chladičnými vložkami. Po předání do laboratoře byly ihned zpracovány. Celkem bylo analyzováno mléko z 85 svozných míst severní a střední Moravy.

Během celého roku byly dále pravidelně sledovány bazénové vzorky jednoho podniku, a to ze tří odběrných míst ($n = 163$). Odběr tohoto druhého souboru vzorků

prováděli pracovníci sami a mléko bylo přepravováno ve vzorkovnicích bez konzervačního činidla a mimo termo-box. Po dodání do laboratoře byly vzorky uchovány v chladničce při 6,5 °C a zpracovány nejpozději do dvou hodin.

Na základě dohody s Centrální laboratoří Pardubice byly ke statistickému zpracování dodány výsledky CPP a CPM za celé období roku 1997. Kompletní třetí soubor obsahuje 4 754 hodnot.

Stanovení CPM u prvních dvou souborů a CPP u všech tří proběhla podle norem IDF (HAVLOVÁ *et al.* 1993). Bylo použito standardně dodávané médium GTK (Milcom Tábör), upravené podle norem IDF. Kultivace probíhala tři dny při 30 °C (CPM) a 10 dnů při 6,5 °C (CPP). Hodnoceny byly misky s počtem kolonií v rozmezí od 20 do 200 CFU/ml. Pro ředění vzorků byl použit sterilní fyziologický roztok (0,85%). 1 ml inokula příslušného ředění byl zalit médiem vytemperovaným na 45 °C, a to vždy pro každé ředění ve dvou opakováních. Hodnoty CPM z Centrální laboratoře jsou výsledkem měření na přístroji Bactoscan (ČURDA *et al.* 1992; SUHREN *et al.* 1989).

Pro všechny tři sledované soubory vzorků byly výsledky statisticky vyhodnoceny, určen korelační koeficient mezi CPP a CPM a byl vypočten poměrný index p_i (tj. poměr reálných hodnot CPP/CPM uvnitř jednoho vzorku).

Vzhledem ke skutečnosti, že data (CPM a CPP) o mikrobiologické kvalitě mléka zpravidla nevykazují normální distribuci hodnot, byla u některých výpočtů korelační a regresní analýzy použita logaritmická transformace dat. Mikrobiologické ukazatele mléka (CPM a CPP) vykazují a zejména dříve (při méně přísných hygienických standardech) vykazovaly velkou variabilitu v případech frekventního výskytu technologické nekázně při získávání mléka. To odpovídá růstu hodnot dat, který je blízký geometrické řadě, resp. exponenciální progresi. Proto je logaritmická transformace dat při statistickém hodnocení oprávněná. Ze stejného důvodu byly jako střední hodnoty souborů určeny geometrické průměry.

Ve třetím souboru (CL Pardubice) byla provedena korelační a regresní analýza vztahu technologické opakovatelnosti hodnot dosahovaných v chovech v období odběru minimálně šesti vzorků (frekvence odběru jednou

až dvakrát za měsíc) ke korespondující průměrné mikrobiologické úrovni (aritmetický průměr) uvnitř obou sledovaných technologických skupin mikroorganismů (CPM, CPP). Následně byla provedena regresní analýza vztahu uvedených parametrů: osa x = aritmetický průměr (\bar{x}) mikrobiologické kontaminace mléka (CPM, CPP) v podniku za definované časové období = úroveň hygienického stavu stáje jako odraz „stupně technologických znalostí chovatele“; osa y = směrodatná odchylka (s_y) korespondujícího průměru mikrobiologické kontaminace (CPM, CPP) mléka v podniku za definované časové období = úroveň technologické opakovatelnosti hygienické kvality = „provazní jistota chovatele“ z pohledu dosahování žádoucí kvality mléka a odpovídajícího zpeněžení.

Ke statistickému vyhodnocení byly použity základní statistické charakteristiky, dále metoda lineární regrese a korelační koeficienty.

VÝSLEDKY

Celkový počet psychrotrofních mikroorganismů se u vzorků ze svozné oblasti severní a střední Moravy pohyboval v rozmezí od 1×10^2 do $2,2 \times 10^5$ CFU/ml, u mezoofilních od 1×10^3 do $3,1 \times 10^5$ CFU/ml. Poměrný index CPP/CPM obou sledovaných skupin pro jednotlivá měření činil 0,13 (tab. 1).

Ke statistickému vyhodnocení byla použita lineární regrese, jejímž výsledkem je rovnice regresní přímky $y = 1,83x - 4,77$. Mezi naměřenými hodnotami CPP a CPM byl stanoven i vysoce významný korelační koeficient $r = 0,96$ (obr. 1).

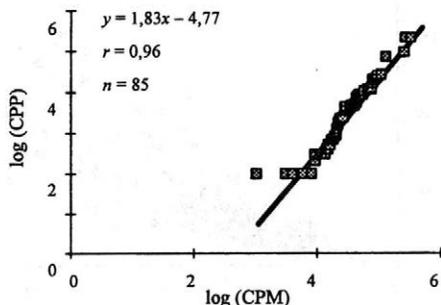
Během roku 1997 bylo hodnoceno 163 bazénových vzorků mléka jednoho zemědělského podniku. CPM se pohyboval od $1,4 \times 10^3$ do 4×10^5 CFU/ml a CPP od 1×10^2 do $1,4 \times 10^5$ CFU/ml. Výsledná rovnice přímky má tvar $y = 1,00x - 0,72$ (obr. 2). Korelační koeficient v tomto případě nebyl tak vysoký jako u předchozího měření ($r = 0,61$) a poměrný index CPP/CPM činil 0,35 (tab. 1).

Hodnocen byl i soubor vzorků z CL Pardubice za celý rok 1997. Hodnoty CPM se pohybovaly od 5×10^3 do $3,2 \times 10^6$ CFU/ml a CPP od 1×10^3 do 2×10^6 CFU/ml. Rovnice regresní přímky má tvar $y = 0,81x + 0,04$ (obr. 3). Korelační koeficient nebyl ani v tomto případě tak vysoko-

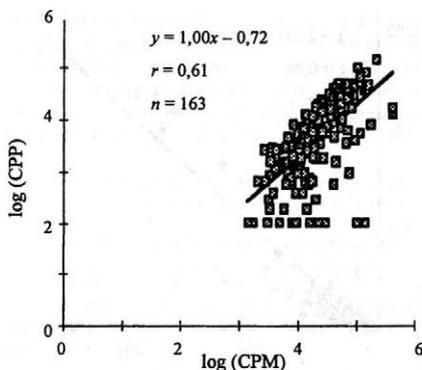
Tab. 1. Celkový obraz souboru vzorků ze svozné oblasti, souboru vzorků jednoho podniku a souboru vzorků z centrální laboratoře – General data on sample set from a collecting area, sample set from one enterprise and sample set from central laboratory

	Vzorky svozné oblasti ¹	Vzorky jednoho podniku ²	Vzorky z CL Pardubice ³
Geometrický průměr CPP ⁴ (CFU/ml)	2 300	3 858	4 932
Geometrický průměr CPM ⁵ (CFU/ml)	26 951	19 941	31 189
Korelační koeficient ⁶ r (CPM/ CPP)	0,96	0,61	0,63
Poměrný index ⁷ p_i (CPP/CPM)	0,13	0,35	0,24

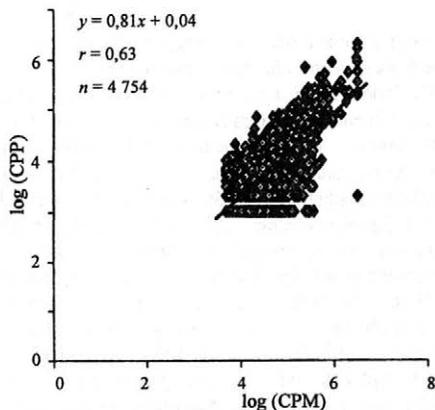
¹samples from collecting area; ²samples from one enterprise; ³samples from Pardubice CL; ⁴CPP geometric mean; ⁵CPM geometric mean; ⁶correlation coefficient; ⁷relative index p_i



Obr. 1. Vzájemná korelace mezi CPM a CPP u vzorků ze svozné oblasti severní a střední Moravy – Mutual correlations between CPM and CPP in samples from a collecting area in northern and southern Moravia



Obr. 2. Vzájemná korelace mezi CPM a CPP u vzorků jednoho podniku během roku 1997 – Mutual correlations between CPM and CPP in samples from one farm in 1997



Obr. 3. Vzájemná korelace mezi CPM a CPP u vzorků z CL Pardubice – Mutual correlations between CPM and CPP in samples from Pardubice CL

ký jako u prvního souboru ($r = 0,63$) a poměrní index CPP/CPM činil 0,24 (tab. 1).

Korelační koeficienty uvnitř souborů CPM a CPP (vybraný soubor vzorků z CL Pardubice, $n = 271$) mezi průměrnými hodnotami a jejich variabilitami u jednotlivých výrobců mléka činily shodně $r = 0,94$ (obr. 4 a 5).

Všechny vypočtené korelační koeficienty byly statisticky významné na hladině $P < 0,001$.

DISKUSE

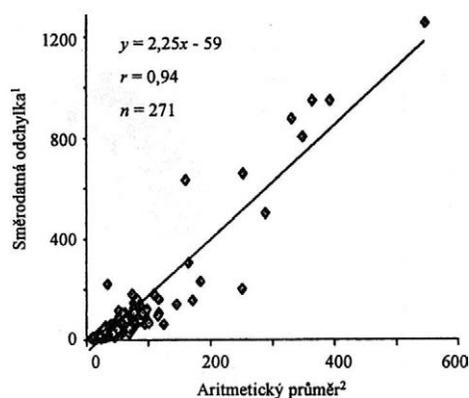
Podle očekávání byl vzájemný vztah mezi CPP a CPM významný. Korelační koeficient byl vyšší pro skupinu bazénových vzorků z jedné svozné oblasti a jednoho odběrového termínu ($r = 0,96$). Naproti tomu korelační koeficient u průběžných vzorků z jednoho podniku byl nižší

($r = 0,61$). Tento rozdíl lze vysvětlit odlišným způsobem odběru, transportu a hlavně odběrem vzorků ve více termínech. Vzorky jednoho podniku nebyly konzervovány, jejich odběr byl časově různorodý, transport se prováděl mimo termobox a po dopravě jsme je zpracovali buď ihned, nebo po uskladnění v chladničce při $6,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ do dvou hodin. Podobné rozdíly ve vzájemných vztazích CPP a CPM uvádějí URBANOVÁ *et al.* (1993). V tomto případě se jednalo o tři soubory vzorků ze dvou odběrných míst. Mnohem vyšší vypovídací schopnost však mají co do rozsahu vzorků hodnoty z centrální laboratoře. I v tomto případě jsme očekávali mnohem vyšší korelační koeficient než byl vypočten ($r = 0,63$). Je však třeba si uvědomit, že zde byly hodnoceny výsledky prováděné odlišnými metodami, což mohlo být důvodem nižšího korelačního koeficientu. CPP byl stanoven shodnou metodikou jako u předchozích souborů, kdežto CPM udává hodnoty naměřené na přístroji Bactoscan.

Naše výsledky potvrdily, že výskyt psychrotrofních bakterií koreluje významně s výskytem mezofilních bakterií. Stejně jako je CPM komplexním výsledkem znečištění ze všech částí technologie dojení (TICHÁČEK *et al.* 1995), lze předpokládat totožný zdroj kontaminace psychrotrofními mikroorganismy. URBANOVÁ *et al.* (1993) popisují významné korelace u vzorků získaných z depistážních stěrů dojicích zařízení.

KOPUNECZ (1995) uvádí, že v CL Pardubice splňuje požadavek ČSN 57 0529 na psychrotrofní bakterie ($\leq 50\,000\text{ CFU/ml}$) 89–92 % dodavatelů. Uvedené normě vyhovělo také 96 % dodavatelů ze sledované svozné oblasti severní a střední Moravy. Pro sledovaný soubor vzorků z CL za rok 1997 bylo zjištěno, že normě rovněž vyhovuje 96 % odběrných míst.

Překvapivě vysoká korelace mezi CPP a CPM u vzorků ze svozné oblasti naznačuje, že pro hodnocení hygienické kvality syrového kravského mléka by s uspokojivou spolehlivostí postačoval jediný ukazatel, a to CPM.

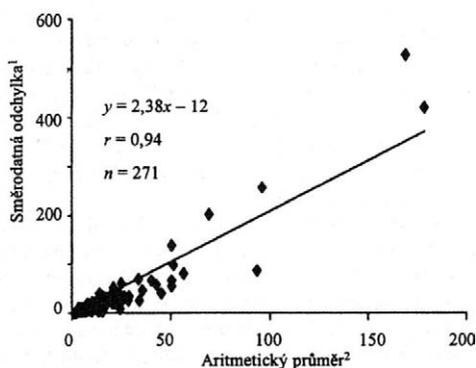


¹standard deviation; ²arithmetical mean

Obr. 4.1. Lineární regrese aritmetického průměru a směrodatné odchylky (CPP v 1 000 CFU/ml) – Linear regression of arithmetical mean and standard deviation (CPM per 1 000 CFU/ml)

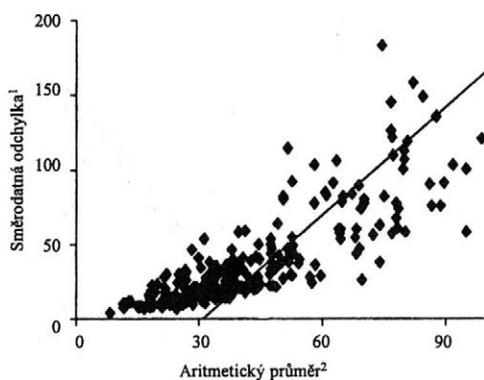
Vypuštění doplňkových ukazatelů by také korespondovalo s normou EU, ve které je uveden pouze CPM. EU tedy považuje CPM za dostatečný ukazatel mikrobiální hygienické kvality mléka.

Poměrný index se pro naše analyzované soubory vzorků pohyboval okolo 0,3. Výsledek potvrzují také některá naše nepublikovaná předchozí sledování. Z tohoto pohledu se jeví před nedávnem plánovaná úprava ČSN 57 0529, kdy počet psychrotrofních bakterií pro I. jakostní třídu měl dosahovat maximálně 5×10^3 CFU/ml, jako nepřilíhš dobře připravený krok. Tomuto požadavku by vyhovělo jen 56 % odběrných míst ze souboru vzorků z centrální laboratoře a 67 % vzorků ze svozné oblasti. Je proto jenom v zájmu objektivitu hodnocení mléka, že tento krok byl revidován.



¹standard deviation; ²arithmetical mean

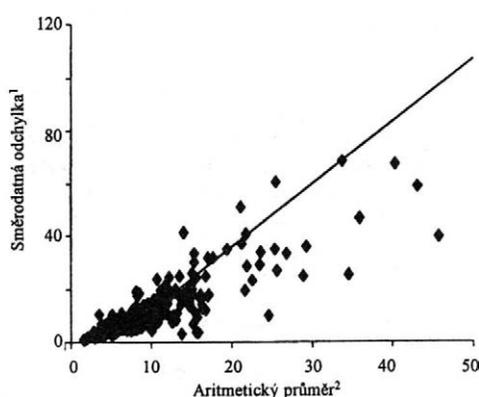
Obr. 5.1. Lineární regrese aritmetického průměru a směrodatné odchylky (CPP v 1 000 CFU/ml) – Linear regression of arithmetical mean and standard deviation (CPM per 1 000 CFU/ml)



¹standard deviation; ²arithmetical mean

Obr. 4.2. Výšeč grafu 4.1. (CPM = 8 000 až 100 000 CFU/ml) – A detail of Fig. 4.1. (CPM = 8 000–100 000 CFU/ml)

Logicky bylo možné očekávat pozitivní korelační vztah mezi variabilitou mikrobiologických hodnot (pro CPM a CPP) dodavatelů a průměrnou mikrobiologickou kvalitou jejich mléka. Je zajímavé, že těsnost uvedených vztahů v provedených výpočtech výrazně předčila očekávání, a proto jsou pro ilustraci zobrazeny v obr. 4 a 5. Na základě odhadu byl očekáván korelační koeficient v oboru 0,5–0,7 proti skutečnosti 0,94. Je hypoteticky představitelné (obr. 6), aby aritmetický průměr mikrobiologického ukazatele prakticky představoval úroveň hygienického režimu stáje, která odpovídá úrovni znalostí chovatele (čím nižší, tím lepší úroveň znalostí; obr. 4–6; osa x), zatímco by variabilita uvedeného průměru (směrodatná odchylka) představovala provozní jistotu chovatele z hlediska zpeněžování mléka (čím nižší, tím vyšší provozní



Obr. 5.2. Výšeč grafu 5.1. (CPM = 8 000 až 100 000 CFU/ml) – A detail of Fig. 4.1. (CPM = 8 000–100 000 CFU/ml)



Obr. 6. Hypoteticko-empirická představa vztahu úrovně hygienického režimu stáje (znalosti chovatele) a provozní jistoty chovatele z hlediska zpeněžení mléka – Hypothetico-empirical idea of the relation between the level of cowshed hygienic regime (breeder's knowledge) and breeder's operational security with respect to milk marketing

KHR = konsolidovaný hygienický režim prvovýroby mléka – consolidated hygienic regime of on-farm milk production

¹breeder's operational security, i.e., reflection of repeated responsible implementation of sanitary procedures; ²optimum level of responsibility at sanitary operations of milking process; ³level of cowshed hygienic situation, i.e., the level of breeder's knowledge; ⁴optimum breeder's erudition

jistota; obr. 4–6; osa y). Dosažení KHR (konsolidovaný hygienický režim) znamená pokles mikrobiálního tlaku prostředí a důležitý předpoklad pro zpracování mléka na mlékárenské výrobky. Zároveň může jít i o faktor redukce poruch sekrece mléka dojnic, zejména environmentálního, ale i kontagiózního původu, tedy o jeden z faktorů prevence a péče o zdraví mléčné žlázy.

Při zavádění systémů HACCP – preventivní systém kontroly nezávadnosti potravin (BER 1998) – sledujících ochra-

nu zdraví konzumentů se předpokládá, že bude zahrnuto celé prostředí zemědělsko-potravinářské technologie (vertikála) ve směru průtoku suroviny k finálním potravinám. Cílem je (BER 1998) podpora správných postupů u subjektů zapojených v přípravě, zpracování, výrobě, skladování, dopravě, distribuci, manipulaci, prodeji a dodávkách potravin. Podle zmíněného pojetí je kontrola kvality mléka jako suroviny při přejímce v zemědělském podniku jedním z prvních možných kritických kontrolních bodů systému HACCP.

Tab. 2. Příklad možných praktických interpretací vztahu průměrné mikrobiologické kvality syrového mléka (hygienické úrovně prvovýroby = znalosti chovatele \bar{x}) a její variability (technologická opakovatelnost = provozní jistota chovatele s_x) v čase, ve smyslu hodnocení podle obr. 4–6 – An example of possible practical interpretations of the relation of mean microbiological quality of raw milk (hygienic standard of on-farm production = breeder's knowledge \bar{x}) and its variability (technological repeatability = breeder's operational security s_x) in time, in the sense of evaluation according to Figs. 4–6

Průměrná mikrobiologická kvalita mléka v zemědělském podniku ¹	Variabilita mikrobiologické kvality mléka ²	Opatření při kontrole kvality (např. v rámci HACCP) ³	Interpretace při poradenství k pozitivní modifikaci kvality mléka ⁴
Velmi dobrá, \bar{x} nízký ⁵ (≤ 25 a ≤ 6)	malá, s_x nízká ⁶ (≤ 20 a ≤ 8)	poskytuje možnost snížení frekvence analýz, což redukuje náklady na kontroly (dnes cca 30 % stájí) ⁷	
Dobrá, \bar{x} poměrně nízký ⁸ (26–50 a 7–12)	mírně větší, s_x mírně zvětšená ⁹ (21–30 a 9–14)	běžná konvenční frekvence kontrolních analýz ¹⁰	náhodné nepravidelné odchylky od technologické kázně při realizaci hygienických režimů ¹¹
Horší, \bar{x} zvýšený až vysoký ¹² (51–75 a 13–18)	větší, s_x vyšší ¹³ (31–45 a 15–20)	výšená frekvence kontrolních mikrobiologických analýz ¹⁴	zdrojem kontaminace jsou pravděpodobně povrchy nebo korodovaná pryž dojitých zařízení a jeho nedostatečná sanitace ¹⁵
Špatná, \bar{x} vysoký ¹⁶ (> 75 a > 18)	vysoká, s_x vysoká ¹⁷ (> 45 a > 20)	vysoká frekvence kontrolních mikrobiologických analýz ¹⁸	zdrojem kontaminace je špatná sanitace dojitých zařízení včetně technologické nekázně při toaletě vemen, špatná stájová hygiena ¹⁹

Pro min. šest analýz bazénového mléka u dodavatele během tří až šesti měsíců po jeden rok (CPM a CPP v tis. CFU/ml) – At least for six analyses of pool milk on the producer's farm within three to six months for a year (CPM and CPP in thous. CFU/ml)

¹mean microbiological quality of milk on the farm; ²variability of microbiological quality of milk; ³measures taken for quality control (e.g., in the framework of HACCP system); ⁴interpretation with respect to consulting aimed at positive modification of milk quality; ⁵very good, low \bar{x} ; ⁶small, low s_x ; ⁷a decrease in the frequency of analyses is provided, so the cost of checks is reduced (currently ca. 30% of cowsheds); ⁸good, relatively low \bar{x} ; ⁹moderately higher, moderately increased s_x ; ¹⁰common conventional frequency of control analyses; ¹¹random irregular deviations from technological discipline at hygienic regime implementation; ¹²worse, higher to high \bar{x} ; ¹³higher, higher s_x ; ¹⁴increased frequency of control microbiological analyses; ¹⁵surfaces or corroded rubber of milking machines and their insufficient disinfection are likely to be the sources of contamination; ¹⁶bad, high \bar{x} ; ¹⁷high, high s_x ; ¹⁸high frequency of control microbiological analyses; ¹⁹insufficient disinfection of milking machines including technological lack of discipline at udder washing are the source of contamination, insufficient cowshed hygiene

Uvedené hodnocení (obr. 4 a 5), hypotetická úvaha (obr. 6) a jejich následné možné praktické interpretace (tab. 2) mohou být využity právě jako informace při zavádění systémů HACCP v diskutovaném prostředí nebo také při poradenství orientovaném na pozitivní modifikace mikrobiologické kvality mléka v problémových provozech prvovýroby.

Závěr

Byla zjištěna vysoce významná korelace u souboru bazénových vzorků z jednoho termínu odběru ze sovné oblasti severní a střední Moravy. Vypočtený korelační koeficient ($r = 0,96$) svědčí o tom, že výskyt psychrotrofních mikroorganismů je velmi úzce svázán s výskytem mezofilních mikroorganismů. Pro další soubory vzorků (soubor výsledků CL Pardubice, vzorky z delšího časového období z jednoho podniku) však korelace již tak vysoké nebyly ($r = 0,63$, resp. $r = 0,61$). Výsledný korelační koeficient mezi průměrnou hodnotou mikroorganismů a jejich variabilitou $r = 0,94$ napovídá, že úroveň hygienického režimu stáje logicky úzce souvisí s provozní jistotou chovatele.

Literatura

- BER (1998): The application of a HACCP system. Brussels. ČSN 57 0529 (1997): Syrové kravské mléko pro mlékárenské ošetření a zpracování. Praha.
- ČURDAL, HAVLOVÁ J., HRABOVÁ H. (1992): Praktické zkušenosti s přístrojem Bactoscan k mikrobiologické kontrole syrového mléka. Prům. Potr., 42: 73–75.
- EU: 92/46 Milk and milk product quality.
- HAVLOVÁ J., JIČÍNSKÁ E., HRABOVÁ H. (1993): Mikrobiologické metody v kontrole jakosti mléka a mlékárenských výrobků. Praha.
- HEESCHEN W., REICHMUTH J., TOLLE A., ZIEDLER H. (1969): Preservation of milk samples for bacteriologic and cytologic examinations and examinations for inhibitors. Milchwissenschaft, 24: 729–734.
- HUŠEK V. (1988): Mléko – surovina pro mlékárenský průmysl. Mlék. Listy, 14: 86–88.
- JASPE A., PALACIOS P., MATIAS P., FERNANDEZ L., SANJOSE C. (1997): Proteinase activity of *Pseudomonas fluorescens* grown in cold milk supplemented with nitrogen and carbon sources. J. Dairy Sci., 77: 923–929.
- KADLEC I., SLANEC E., SEYDLOVÁ R. (1997): Systém zajišťování jakosti syrového kravského mléka. Milcom Servis: 9–12.
- KOHÚT P., RUSINKO M. (1978): Izolácia *Pseudomonas putrefaciens* z klinického materiálu. Čs. Epidemiol., Mikrobiol., Imunolog., 27: 151–155.
- KOPUNECZ P. (1995): Hygienická kvalita syrového mléka podle výsledků centrální laboratoře Pardubice. In: Sbor. Hygiena získávání mléka. Rapotín, VÚCHS: 30–34.
- KRATOCHVÍL L. (1992): Rozklad mléčného tuku v zemědělské prvovýrobě. Náš chov, 1: 22–23.
- KŘIVÁNEK M. (1998): Výroba a zpracování mléka v ČR v roce 1997. Mlékářstvo, 29: 22–24.
- LAW B. (1979): Reviews of the progress of dairy science: enzymes of psychrotrophic bacteria and their effects on milk and milk products. J. Dairy Res., 46: 573.
- MÍČKOVÁ V., LUKÁŠOVÁ J., KONEČNÝ S. (1989): *Pseudomonas aeruginosa* v syrovém a pasterovaném mléce. Vet. Med., 34: 411–419.
- MUIR D. D., PHILLIPS J. D. (1984): Prediction of the shelf life of raw milk during refrigerated storage. Milchwissenschaft, 39: 7–11.
- MUIR D. D., PHILLIPS J. D., DALGLEISH D. G. (1979): The lipolytic and proteolytic activity of bacteria isolated from blends of raw milk. J. Soc. Dairy Techn., 32: 19–23.
- PETTIPHER G. L., RODRIGUES U. M. (1982): A bacteriostatic mixture for milk samples and its effect on bacteriological, cytological and chemical compositional analysis. J. Appl. Bact., 52: 259–265.
- SUHREN G., REICHMUTH J., HEESCHEN W. (1989): Zur Messung der bakteriologischen Beschaffenheit der Rohmilch mit dem Bactoscan-Gerät. DMZ, 43: 3–11.
- TICHÁČEK A., BENDA P., VYLETĚLOVÁ M. (1995): Zkušenosti s poradenstvím v hygienicky problémových stájích v prvovýrobě mléka. In: Sbor. Hygiena získávání mléka, Rapotín, VÚCHS: 42–48.
- TERNSTRÖM A., LINDBERG A. M., MOLIN G. (1993): Classification of the spoilage flora of raw and pasteurized bovine milk, with special reference to *Pseudomonas* and *Bacillus*. J. Appl. Bacteriol., 75: 25–34.
- URBANOVÁ E. (1993): Zrychlená metoda stanovení psychrotrofních bakterií v syrovém mléce. Vet. Med. – Czech, 38: 83–88.
- URBANOVÁ E., PÁČOVÁ Z. (1995): Význam nefermentujících gramnegativních psychrotrofních bakterií v hygieně potravin. Veterinářství, 8: 355–357.
- URBANOVÁ E., VYHNÁLKOVÁ J., MALÍKOVÁ M. (1993): Závislost počtu psychrotrofních bakterií u vzorků z prvovýroby mléka. Potravn. Vědy, 11: 13–19.

Došlo 13. 11. 1998

Přijato k publikaci 8. 2. 1999

Kontaktní adresa:

RNDr. MARCELA VYLETĚLOVÁ, Výzkumný ústav pro chov skotu, s. r. o., Rapotín, 788 13 Víkřovice, Česká republika, tel.: + 420 649 21 41 01, fax: + 420 2 649 21 57 02, e-mail: vuchs_rapotin@ova.pvtnet.cz

Průběh proteolýzy bílkovin a změny aktivity kyselých fosfatasy v sýrech holandského typu vyráběných s různými druhy smetanových kultur*

VLADIMÍR DRÁB¹, MARIE VEJDOVÁ², JIŘÍ SAJDOK³, RADOVAN HYNEK³

Milcom Ltd., Dairy Research Institute, ¹Tábor and ²Prague; ³Institute of Chemical Technology
– Department of Biochemistry and Microbiology, Prague, Czech Republic

Abstract

DRÁB V., VEJDOVÁ M., SAJDOK J., HYNEK R. (1999): Proteolysis and acid phosphatase activity in cheeses of Gouda type made with different starters. Czech J. Food Sci., 17: 223–234.

Influence of five different mesophilic starters on proteolysis, free amino acids and water soluble peptides content and acid phosphatase activity in Gouda cheese during 120 days of ripening were tested. Different starters produced different degrees of bitterness, with starter 973 producing the most bitter cheeses. Significant differences in the level of proteolysis and free amino acids content were observed. The most intensive breakdown of proteins was observed in cheeses made with starter 933, the lowest breakdown in cheeses made with starter 1026. After 120 days of ripening the total amount of free amino acids was 182 mmoles/kg for cheeses made with starter 933 and 71 mmoles/kg for cheeses made with starter 1026. The most abundant amino acids were glutamic acid (11–17%), leucine (10–17%) and lysine (8–21% of total content). The most significant differences between cheeses made with different starters were observed in relative amount of lysine. Appreciable differences were also found in the content of water soluble peptides. The peptide pattern allowed a distinction between cheeses made with different starters. The level of acid phosphatase activity was influenced by age of cheese and by starter used. The lowest values after 5 and 120 days of ripening were observed for cheeses made with starter 973 (0.88×10^{-4} ; 0.56×10^{-4}), the highest for cheeses made with starter F24 (3.04×10^{-4} ; 2.80×10^{-4} phosphatase units/g dry matter). The obtained results indicate that low activity of acid phosphatase in combination with insufficient hydrolysis of some peptides are reasons for appearance of bitter taste in cheeses made with starter 973.

Key words: Gouda cheese; ripening; proteolysis; free amino acids; peptides; acid phosphatase

Abstrakt

DRÁB V., VEJDOVÁ M., SAJDOK J., HYNEK R. (1999): Průběh proteolýzy bílkovin a změny aktivity kyselých fosfatasy v sýrech holandského typu vyráběných s různými druhy smetanových kultur. Czech J. Food Sci., 17: 223–234.

Vliv pěti různých smetanových kultur na průběh proteolýzy bílkovin, zastoupení volných aminokyselin, ve vodě rozpustných peptidů a na aktivitu kyselých fosfatasy byl sledován během 120 dní zrání u sýrů typu Gouda. Jednotlivé kultury se lišily mírou hořkosti vyrobených sýrů, přičemž nejvíce hořké byly sýry vyrobené s kulturou 973. Nejvyšší rozklad bílkovin byl pozorován u kultury 933 a nejnižší u kultury 1026. Během 120 dní zrání vzrostl celkový obsah volných aminokyselin na 182 mmolů na kg sýra v případě kultury 933, resp. na 71 mmolů u kultury 1026. Nejvíce zastoupenými aminokyselinami byla kyselina glutamová (11–17 % celkového obsahu), leucín (10–17 %) a lysin (8–21 %). Nejvýraznější rozdíly mezi jednotlivými kulturami byly zaznamenány v obsahu lysinu. Rozdíly mezi kulturami byly také patrné ve složení frakce rozpustné ve vodě. Rozdělení peptidů obsažených ve frakci rozpustné ve vodě umožnilo rozlišení mezi sýry vyrobenými s různými kulturami. Aktivita kyselých fosfatasy v sýrech byla nejvíce ovlivněna stářím sýra a použitou kulturou. Nejnižší hodnoty po 5 a 120 dnech zrání byly pozorovány u sýrů vyrobených s kulturou 973 ($0,88 \times 10^{-4}$; $0,56 \times 10^{-4}$ jednotek fosfatasy/g sušiny) a nejvyšší pro sýry vyrobené s kulturou F24 ($3,04 \times 10^{-4}$; $2,80 \times 10^{-4}$). Dosažené výsledky naznačují, že nízká aktivita kyselých fosfatasy v kombinaci s nedostatečným rozkladem některých peptidů jsou příčinou vzniku hořké chuti u sýrů vyrobených s kulturou 973.

Klíčová slova: sýry holandského typu; zrání; proteolýza; volné aminokyseliny; peptidy; kyselá fosfatasa

* Práce byla uskutečněna za finanční podpory GA ČR (grant č. 203/96/1143), NAZV (projekt č. EP 0960006038) a postdoktoradského grantu č. 203/98/P201.

Proteolýza bílkovin je důležitá pro vývoj chuti a vůně většiny druhů sýrů. Na rozkladu bílkovin mléka se podílí řada enzymů pocházejících ze syřidla (chymosin, pepsin), z mléka (plasmin) nebo obsažených v přidávaném zákysu či mikroflóře kontaminující produkt během výrobního procesu. Relativní příspěvek proteolytických enzymů z jednotlivých zdrojů závisí na druhu sýra a podmínkách výroby (FOX *et al.* 1993). Ačkoliv bakterie mléčného kvašení jsou zpravidla jen mírně proteolytické, obsahují proteinasy a řadu peptidas, které jsou zodpovědné za tvorbu malých peptidů a aminokyselin v sýrech.

Nejpoužívanějším druhem v zákysech pro výrobu sýrů je rod *Lactococcus*, jehož proteolytický systém byl důkladně studován na molekulární, biochemické a genetické úrovni (BOCKELMANN 1995; EXTERKATE 1995; LAW & HAANDRIKMAN 1997). V sýrech holandského typu dochází k dosažení maximálního počtu kolonií do 24 hodin po výrobě (přibližně 10^9 kolonie tvořících buněk [ktb] na 1 g sýra). Poté dochází k poklesu počtu živých buněk, přičemž rychlost poklesu je vlastností charakteristickou pro každý kmen (MORGAN *et al.* 1995). Příčinou poklesu je nízké pH, nedostatek využitelných sacharidů a vysoká koncentrace NaCl. Autolýzou buněk dochází k uvolnění intracelulárních peptidas do těsta sýra. Tyto enzymy dále odbourávají přítomné peptidy za vzniku malých peptidů a aminokyselin. Další enzymatické a chemické reakce vedou k odbourávání aminokyselin a vzniku řady sloučenin, včetně aminů, aldehydů, alkoholů, fenolů a indolu, přispívajících k výsledné chuti a vůni zralých sýrů. Také některé oligopeptidy jsou považovány za možné nositele hořké a nasládlé chuti.

MARTLEY a LAWRENCE (1972) ve své práci naznačují, že kultura produkující sýr s dobrou chutí a vůní by obecně měla mít relativně vysokou aktivitu kyselých fosfatasy a nízkou proteolytickou aktivitu, ačkoliv existuje řada výjimek. Vysoká aktivita kyselých fosfatasy byla také navržena jako jedno z kritérií při výběru vhodných termofilních kultur pro sýry italského typu (BERSANI & BOTTAZZI 1978). Navzdory potenciálně důležité roli kyselých fosfatasy v procesu zrání se práce na toto téma zabývají převážně jen měřením aktivity fosfatasy v kulturách a v čedaru (MARTLEY & LAWRENCE 1972; DULLEY & KITCHEN 1973). Aktivita kyselých fosfatasy u sýrů holandského a švýcarského typu nebyla sledována a její role v procesu zrání není známa. Předpokládá se, že část aktivity pochází z enzymu přítomného v mléce a část z použité kultury. ANDREWS a ALICHANIDIS (1975) sledovali relativní důležitost jednotlivých zdrojů u řady sýrů řeckého typu a čedaru a zjistili, že výsledná aktivita kyselých fosfatasy byla způsobena převážně enzymem pocházejícím z mléka.

LARSEN a PARADA (1988) sledovali aktivitu kyselých fosfatasy u řady kultur (*Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Penicillium roqueforti*) a v sýrech výrobních s těmito kulturami. Prokazatelný vliv kultury byl

jen u sýrů vyrobených s plísní *Penicillium roqueforti*. Kyselá fosfatasa je schopna defosforylace kaseinu a fosfopeptidů vznikajících z kaseinu působením syřidla a plasminu. Přítomnost defosforylovaných nebo částečně defosforylovaných fosfopeptidů byla prokázána řadou autorů v různých typech sýrů (ADDEO *et al.* 1992; ROUNT-ALGARON *et al.* 1994; FERRANTI *et al.* 1997). FERRANTI *et al.* (1997) naznačují, že k rozkladu fosfopeptidů dochází nejprve odstraněním fosfátu z N-koncového fosfoserinu a následně dochází k degradaci částečně defosforylovaného peptidu aminopeptidasami za vzniku peptidu kratšího o N-koncový serin (nebo jinou aminokyselinu).

Cílem práce bylo porovnat vlastnosti sýrů holandského typu vyrobených s různými kulturami z hlediska průběhu proteolýzy, aktivity kyselých fosfatasy a organoleptických vlastností.

MATERIÁL A METODY

Sledování vlivu použité smetanové kultury na průběh proteolýzy bílkovin a senzorické vlastnosti sýrů typu Gouda bylo prováděno na pilotním zařízení Výzkumného ústavu mlékárenského (VÚM) v Táboře. Na základě dřívějších výsledků získaných během řešení úkolů prováděných VÚM v oblasti čistých mléčných kultur bylo vybráno pět různých smetanových kultur lišících se procentuálním zastoupením kyselinotvorných a aromatvorných mikroorganismů. Použité kultury pocházejí ze sbírky Laktoflora a jsou uchovávány pod čísly 16, 933, 973, 1026 a F24. Lyofilizované kultury byly obnoveny v egalizovaném mléce a kultivovány při optimální teplotě do sražení. Po dvojím přeočkování byly použity pro výrobu, případně zamrazeny. Aktivace zamrazených kultur byla prováděna způsobem shodným s aktivací kultur lyofilizovaných.

Podmínky výroby sýrů, odběr a senzorické hodnocení vzorků

Každá kultura byla použita při třech výrobach sýrů typu Gouda. K 180 l pasterovaného a baktofugovaného mléka byl přidán 40% (m/v) roztok NaNO_3 (25 ml/100 l) a nasycený roztok CaCl_2 (30 ml/100 l).

Po ohřátí na 31 °C bylo mléko zaočkováno 0,7 % příslušné kultury a po 30 min předkysání zasýřeno syřidlem Cagliostar obsahujícím 75 % chymosinu (Cagliificio Clerici spa, Cadorago, Itálie) o síle 1 : 15 000. Dále byl udržován následující technologický postup: doba syření 30–35 min; krájení 15 min; míchání 10 min; pauza 5 min; odpouštění syrovátky 1/3 původního objemu; přidavek teplé vody 1/3 původního objemu; teplota dosoušení 37 °C; délka dosoušení 30–40 min; doba předlisování 20 min; doba lisování 120 min; prokysávání 20 h; solení 48 h při 14 °C; zrání při 14 °C pod nátěrem Fungus (Lamirsa, Barcelona, Španělsko) (3–4 nátěry během zrání).

Vzorky byly odebrány ve formě výkroje po 5, 15, 30, 60, 90 a 120 dnech od data výroby a po okrojení 2–4mm

povrchové vrstvy byly použity pro zjištění sledovaných hodnot. Senzorické hodnocení sýrů bylo prováděno po 60, 90 a 120 dnech zrání podle kritérií definovaných pro každý druh sýra. Hodnocení chuti sýrů bylo prováděno podle pětibodové stupnice (1 vynikající, 2 dobrý, 3 vyhovující, 4 špatný, 5 velmi špatný). Prezentované výsledky jsou průměrem hodnocení všech hodnotitelů (4–6 osob).

Základní analýzy

Obsah sušiny: po 4 h sušení při teplotě 102 °C.

Obsah tuku: acidobutyrometrickou metodou podle van Gulika.

Obsah NaCl: argentometrickou titrací.

Hodnota pH vpichovací elektrodou InLab 427 (Mettler-Toledo, Greifensee, Švýcarsko) ve stlačeném nastrohaném vzorku sýra.

Stanovení obsahu celkových bílkovin a podílu jednotlivých frakcí na celkovém obsahu bílkovin: Navážený nastrohaný sýr (40 g) byl homogenizován s 25 ml deionizované vody (65 °C) při 13 500 rpm 1 min pomocí Ultra-Turrax T25 (Janke & Kunkel, Staufen, FRG). Získaná suspenze byla převedena do odměrné baňky a temperována 60 min při 65 °C. Po ochlazení suspenze na 20 °C byl objem doplněn po rysku a filtrován přes Filtrak 389 a 390 (Filtrak, Niederschlag, FRG). Získaný filtrát byl použit pro stanovení dusíku rozpustného při pH 4,6 (NCN), dusíku rozpustného v 12% (m/v) kyselině trichloroctové (NPN) a dusíku rozpustného v 5% kyselině fosfowolframové (PTA).

Obsah NCN: K 20 ml filtrátu byly po zředění (1 : 1) deionizovanou vodou (40–50 °C) přidány 2 ml 10% kyseliny octové. Po 10 min temperace při 38 °C bylo přidáno 2,4 ml 1M octanu sodného a po temperaci na 20 °C byl objem doplněn na 50 ml. Po 15 min srážení byla sraženina odfiltrována pomocí Filtrak 390 a filtrát byl po zalití koncentrovanou kyselinou sírovou použit pro stanovení.

Obsah NPN: Pro stanovení bylo použito 25 ml filtrátu, který byl srážen stejným objemem 24% (m/v) kyseliny trichloroctové. Po 60 min temperace při 65 °C a ochlazení na 20 °C byla sraženina odfiltrována pomocí Filtrak 390 a po zalití koncentrovanou kyselinou sírovou ve filtrátu stanoven NPN.

Obsah PTA: Pro stanovení bylo použito 20 ml filtrátu, který byl srážen do druhého dne při pokojové teplotě 6 ml 33,3% (m/v) kyseliny fosfowolframové a 14 ml 25% kyseliny sírové. Sraženina byla oddělena odstředěním (5 000 rpm, 15 min) a filtrací přes Filtrak 390. Získaný filtrát byl po zalití koncentrovanou kyselinou sírovou použit pro stanovení PTA.

Obsah celkových bílkovin (CBI): Pro stanovení byl použit 1 g nastrohaného vzorku. Obsah celkových bílkovin byl získán vynásobením obsahu celkového dusíku faktorem 6,38. Kjeldahlizace probíhala po přidavku selenového katalyzátoru spalováním ve spalovacím bloku Digestion system 20 řízeném programátorem Autostep 1012. Obsah dusíku byl zjištěn automatickou titrací po-

mocí Kjeltec Auto 1030 Analyser. Použité přístroje jsou výrobky firmy Tecator (Höganäs, Švédsko). Výsledky uvedené v tab. 1 jsou průměrem dvou stanovení; NCN, NPN a PTA jsou uvedeny v procentech obsahu celkových bílkovin.

Příprava vzorků pro HPLC a stanovení aktivity kyselých fosfatasy

Veškeré nádoby používané pro přípravu vzorků pro analýzu volných aminokyselin a peptidů bylo 24 h máčeno v 6N HCl a poté důkladně opláchnuto deionizovanou vodou a usušeno při 180 °C. Skleněné vialky používané pro uchovávání vzorků byly vyčištěny v ultrazvukové lázni a pyrolyzovány (4 h při 500 °C).

Nastrohaný sýr (15 g) byl mixován s 45 ml 30 °C teplé deionizované vody při 12 500 rpm (2 × 1 min s minutovou pauzou). Po homogenizaci byla hmotnost upravena deionizovanou vodou na 80 g a získaná směs byla za občasného míchání inkubována 30 min při 30 °C. Poté byla odstředěna (50 00 rpm, 10 min) a temperována při 4 °C. Po ztuhnutí byla tuková vrstva odstraněna nerezovou lžičkou a vodná fáze filtrována přes Filtrak 390. Alikvotní podíl filtrátu byl použit pro stanovení peptidů rozpustných ve vodě a aktivity kyselých fosfatasy. Pro stanovení volných aminokyselin metodou AccQ•Tag bylo použito 20 ml filtrátu, ke kterému byly přidány 4 ml 20% (m/v) kyseliny sulfosalicylové. Po 2 h srážení při pokojové teplotě byla sraženina oddělena filtrací přes Filtrak 390. Po promytí sraženiny 10 ml 4% (m/v) kyseliny sulfosalicylové byl filtrát doplněn na 50 ml 0,2M borátovým pufrům (pH 8,8). Alikvotní podíl byl do doby analýzy uchováván v hnědých vialkách při –18 °C.

Analýza peptidů rozpustných ve vodě HPLC

Pro analýzu aminokyselin a peptidů rozpustných ve vodě byl použit kapalinový chromatograf firmy Waters (Milford, USA) sestávající z autosampleru model 717+, kvartérního čerpadla model 616, spektrofotometrického detektoru model PDA996 a fluorimetrického detektoru model 474. Data byla získávána a analyzována prostřednictvím programu Millennium 2010 (Waters). Používaný termostat kolony LCO 101 je výrobkem firmy ECOM (Praha, ČR). Vzorky byly před analýzou filtrovány pomocí membránových filtrů Chromafil PVDF (0,2 mm).

Podmínky stanovení: nástřik 25 ml; teplota kolony 35 °C; stacionární fáze C18 Nova-Pak 4mm, 60 A (3,9 × 150 mm) (Waters); mobilní fáze: A – 1,4% vodný roztok kyseliny trifluoroctové, B – acetonitril, C – deionizovaná voda; gradient: průtok 0,8 ml/min; detekce při 210 nm:

čas [min]	A [%]	B [%]	C [%]	křivka
0	7	1	92	6
15	7	12	81	6
32	7	20	73	6
52	6	32	62	6
68	6	37	57	6
71	6	40	54	6

Tab. 1. Změny chemického složení a senzoričského hodnocení během zrání sýrů typu Gouda vyrobených s různými druhy smetanových kultur – Changes in chemical composition and sensory evaluation during ripening of cheeses of Gouda type made with different starters

Použitá kultura ¹	Sušina ² [%]	SH	pH	NaCl [%]	tvS [%]	CBI [%]	NCN [%]	NPN [%]	PTA [%]	Senzoričská analýza ³
973	57,24 ± 0,72	77,9 ± 2,3	5,36 ± 0,08	1,92 ± 0,17	45,3 ± 4,9	25,01 ± 0,74	5,63 ± 0,47	3,00 ± 0,11	0,71 ± 0,01	
	59,24 ± 1,15	74,4 ± 2,1	5,42 ± 0,10	2,10 ± 0,11	nest.	26,70 ± 2,22	8,35 ± 1,53	4,56 ± 0,44	0,73 ± 0,06	
	61,96 ± 1,65	77,8 ± 2,8	5,43 ± 0,07	2,26 ± 0,12	47,5 ± 2,4	27,53 ± 1,68	12,70 ± 0,70	6,52 ± 0,78	1,08 ± 0,30	
	64,20 ± 1,61	80,4 ± 2,2	5,51 ± 0,06	2,37 ± 0,17	44,5 ± 4,1	30,43 ± 2,58	16,21 ± 1,95	8,97 ± 1,13	1,55 ± 0,17	3,8 ± 0,6
	66,20 ± 2,23	85,1 ± 3,2	5,57 ± 0,14	2,57 ± 0,19	44,3 ± 4,2	29,58 ± 2,16	21,41 ± 1,41	11,90 ± 1,48	2,16 ± 0,20	4,2 ± 0,2
	66,40 ± 1,38	84,1 ± 3,3	5,57 ± 0,11	2,61 ± 0,04	46,0 ± 4,5	30,13 ± 2,72	23,76 ± 1,97	13,44 ± 1,24	2,16 ± 0,17	4,2 ± 0,2
933	56,17 ± 0,52	76,4 ± 5,7	5,42 ± 0,05	2,08 ± 0,08	43,6 ± 5,2	26,25 ± 2,39	5,55 ± 0,84	2,77 ± 0,26	0,71 ± 0,08	
	58,12 ± 0,67	76,1 ± 2,7	5,50 ± 0,06	2,32 ± 0,10	42,7 ± 5,0	26,29 ± 2,65	9,12 ± 1,25	5,11 ± 0,46	1,12 ± 0,18	
	59,89 ± 0,36	78,1 ± 5,3	5,50 ± 0,05	2,60 ± 0,17	43,7 ± 5,2	26,40 ± 1,05	12,71 ± 0,70	7,20 ± 0,21	1,65 ± 0,24	
	62,07 ± 2,11	78,3 ± 4,6	5,55 ± 0,05	2,54 ± 0,19	43,0 ± 4,6	28,82 ± 2,30	17,73 ± 0,97	9,78 ± 0,58	2,54 ± 0,32	1,5 ± 0,5
	63,09 ± 0,31	79,9 ± 6,3	5,57 ± 0,03	2,70 ± 0,13	43,8 ± 5,6	29,70 ± 2,79	21,62 ± 1,56	12,13 ± 0,27	3,56 ± 0,44	2,3 ± 0,5
	63,83 ± 0,88	89,1 ± 7,8	5,57 ± 0,04	2,86 ± 0,07	43,1 ± 5,6	29,37 ± 2,90	24,76 ± 1,99	14,43 ± 0,78	3,93 ± 0,47	2,2 ± 0,6
1026	57,43 ± 0,77	75,3 ± 2,4	5,44 ± 0,06	2,26 ± 0,09	43,2 ± 0,5	26,72 ± 0,42	5,07 ± 0,60	2,62 ± 0,30	0,64 ± 0,04	
	59,69 ± 0,60	70,0 ± 5,1	5,53 ± 0,05	2,35 ± 0,07	43,8 ± 1,1	27,50 ± 0,31	7,97 ± 0,10	4,29 ± 0,11	0,76 ± 0,04	
	60,55 ± 0,55	74,0 ± 1,1	5,54 ± 0,04	2,61 ± 0,08	42,7 ± 0,4	28,01 ± 0,45	11,66 ± 0,22	6,30 ± 0,03	0,97 ± 0,06	
	62,31 ± 0,34	76,8 ± 3,3	5,54 ± 0,02	2,66 ± 0,08	43,1 ± 1,4	29,44 ± 0,69	17,36 ± 1,85	8,46 ± 0,56	1,32 ± 0,01	2,0 ± 0,5
	63,96 ± 0,68	83,2 ± 3,5	5,55 ± 0,02	2,56 ± 0,07	44,1 ± 1,6	30,02 ± 0,16	18,80 ± 0,81	10,33 ± 0,48	1,61 ± 0,07	1,8 ± 0,8
	66,08 ± 0,85	87,5 ± 1,1	5,59 ± 0,04	2,98 ± 0,20	43,6 ± 0,7	30,64 ± 0,88	22,44 ± 0,81	11,94 ± 0,36	1,79 ± 0,18	1,3 ± 0,3
F24	58,31 ± 0,78	72,7 ± 0,5	5,43 ± 0,07	2,21 ± 0,22	44,6 ± 1,1	26,01 ± 1,35	4,91 ± 0,49	2,77 ± 0,24	0,74 ± 0,05	
	61,38 ± 0,54	75,6 ± 1,1	5,53 ± 0,01	2,51 ± 0,24	46,2 ± 1,6	27,55 ± 0,79	12,86 ± 0,77	7,34 ± 0,29	1,82 ± 0,05	
	61,66 ± 0,61	74,0 ± 1,2	5,61 ± 0,04	2,42 ± 0,28	45,7 ± 1,4	27,99 ± 1,39	11,94 ± 1,08	6,95 ± 0,39	1,54 ± 0,05	
	62,49 ± 0,84	76,3 ± 1,3	5,57 ± 0,07	2,68 ± 0,31	45,8 ± 2,5	28,51 ± 1,42	16,59 ± 0,91	9,53 ± 0,53	2,29 ± 0,23	2,3 ± 0,5
	63,92 ± 0,49	83,2 ± 0,9	5,59 ± 0,04	2,63 ± 0,12	44,1 ± 1,6	28,74 ± 1,18	20,35 ± 0,33	11,75 ± 0,19	3,03 ± 0,10	1,6 ± 0,1
	65,02 ± 0,51	84,0 ± 2,2	5,63 ± 0,06	2,89 ± 0,18	45,6 ± 2,4	29,15 ± 1,16	22,82 ± 0,81	13,84 ± 0,18	3,76 ± 0,20	1,3 ± 0,2
16	58,46 ± 0,29	71,7 ± 1,0	5,44 ± 0,02	1,93 ± 0,11	46,8 ± 0,2	25,98 ± 0,53	5,26 ± 0,64	3,10 ± 0,33	0,79 ± 0,09	
	60,37 ± 1,03	70,5 ± 1,5	5,50 ± 0,01	2,25 ± 0,13	48,0 ± 1,2	26,76 ± 0,35	8,38 ± 0,50	4,82 ± 0,29	1,12 ± 0,18	
	61,86 ± 1,04	74,7 ± 2,1	5,58 ± 0,02	2,53 ± 0,07	48,2 ± 0,7	27,20 ± 0,59	12,80 ± 0,59	7,36 ± 0,39	1,58 ± 0,28	
	62,63 ± 1,03	79,3 ± 3,0	5,52 ± 0,04	2,62 ± 0,08	46,0 ± 1,0	28,00 ± 0,56	19,72 ± 3,90	11,70 ± 2,78	2,84 ± 1,07	2,2 ± 0,2
	64,80 ± 0,86	81,3 ± 0,2	5,52 ± 0,00	2,82 ± 0,08	46,8 ± 1,0	28,12 ± 0,85	21,45 ± 1,04	12,52 ± 0,91	3,26 ± 0,49	3,2 ± 0,6
	66,12 ± 0,64	81,5 ± 4,4	5,59 ± 0,04	2,83 ± 0,07	46,6 ± 0,4	29,18 ± 0,57	21,78 ± 0,86	13,83 ± 0,35	3,35 ± 0,52	2,3 ± 0,2

Vysvětlivky k tab. 1 – Explanation for Table 1

Sušina (Dry matter) = obsah sušiny sýrů – content of cheese dry matter

SH = titrační kyselost sýrů (v ml 0,25 N NaOH/100 g sýra) – titratable acidity of cheeses (in ml 0.25 N NaOH/100 g cheese)

pH = aktivní kyselost sýrů – active acidity of cheeses

NaCl = obsah NaCl – NaCl content

tvs = obsah tuku v sušině – fat content in dry matter

CBI = obsah celkových bílkovin – total protein content

NCN = obsah dusíku rozpustného při pH 4,6 – pH 4.6 soluble nitrogen

NPN = obsah dusíku rozpustného v 12% kyselině trichloroctové – 12% trichloroacetic acid soluble nitrogen

PTA = obsah dusíku rozpustného v 5% kyselině fosfowolframové – 5% phosphotungstic acid soluble nitrogen

nest. = nestanovené – not evaluated

Obsah NCN, NPN a PTA je vyjádřen jako procento obsahu celkových bílkovin – The contents NCN, NPN and PTA are expressed as percentages of total protein content

Výsledky uvedené v tabulce jsou průměrné hodnoty ze tří nezávislých pokusů (\pm – hodnota směrodatné odchylky) – The results in the table are average values of three independent experiments (\pm – standard deviation value)

¹type of starter; ²dry matter; ³sensory analysis

Stanovení volných aminokyselin a amoniaku v sýrech metodou RP-HPLC

Podmínky stanovení: Příslušný SSA extrakt byl rozmražen, naředěn (1 : 3) mobilní fází A a filtrován přes membránový filtr (0,2 mm). Pro derivatizaci bylo použito 10 ml filtrátu, 70 ml borátového pufru a 20 ml AccQ Fluor reagent (Waters).

Postup a podmínky derivatizace byly shodné s metodikou derivatizace volných aminokyselin v bílkovinných hydrolyzátech metodou AccQ•Tag (Waters): nástřik vzorku 20 ml; teplota kolony 37 °C; stacionární fáze C18 Nova-Pak 4 mm, 60 A (3,9 × 150 mm) (Waters); mobilní fáze A – AccQ, Tag Eluent A, B – acetonitril, C – deionizovaná voda; gradient: průtok 1,0 ml/min; detekce: fluorescence excitací při vlnové délce 250 nm, emisní 395 nm:

čas [min]	A [%]	B [%]	C [%]	křivka
0,0	0	100	0	0 *
0,5	99	1	0	11
18,0	95	5	0	6
19,0	91	9	0	6
29,5	83	17	0	6
33,0	0	60	40	11
36,0	100	0	0	11

Stanovení aktivity kyselých fosfatů

Tato metoda je modifikací metody, kterou použili LARSEN a PARADA (1988) pro stanovení kyselých fosfatů v sýrech a zákysech. Definice fosfatové jednotky byla převzata z práce autorů ANDERSCH a SZCZYPIŃSKI (1947). Jedna fosfatová jednotka (acpu) byla definována jako množství enzymu schopné uvolnit při teplotě 37 °C během 1 h 1 mmol *p*-nitrofenolu z 1 l roztoku. Vodný extrakt sýra (0,25 ml) byl mixován s 0,25 ml 0,25% (m/v) roztoku *p*-nitrofenylfosfátu (Sigma 104 fosfatase substrate) a 0,5 ml 1M roztoku acátového pufru pH 4,8. Po 16 h inkubace při 37 °C byla reakce ukončena 1 ml 12% (m/v) kyseliny trichloroctové. Po 60 min inkubace byly vysrážené bílkoviny odděleny odstředěním a 0,7 ml supernatantu bylo mixováno s 3 ml 1M NaOH. Absorban-

ce byla měřena při 405 nm proti slepému vzorku a výsledné hodnoty byly vyjádřeny ve fosfatových jednotkách na gram sušiny sýra (LARSEN & PARADA 1988). Aktivita kyselých fosfatů u bakterií mléčného kvašení byla měřena po 20 h kultivace testované kultury při její optimální teplotě v 0,25 ml 10% obnoveného odstředěného mléka obohaceného 0,5% kvasničného extraktu.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Změny základních parametrů sýrů během zrání

V tab. 1 jsou uvedeny změny základních sledovaných parametrů – sušiny, tuku v sušině, titrační a aktivní kyselosti, obsahu soli – a také změny v zastoupení jednotlivých skupin bílkovin. Parametr dusík rozpustný při pH 4,6 (NCN) zachycuje obsah nekaseinového dusíku (polypeptidů, oligopeptidů a aminokyselin). Hodnoty dusíku rozpustného v 12% kyselině trichloroctové (NPN) zachycují především obsah peptidů s 2–20 aminokyselinovými zbytky, zatímco v 5% kyselině fosfowolframové (PTA) jsou rozpustné především aminokyseliny a peptidy do molekulové hmotnosti 600 daltonů.

Sýry vyrobené s kulturou 973 vykazují relativně vysoký rozklad bílkovin z hlediska obsahu NCN a NPN, ale relativně nízký rozklad z hlediska obsahu PTA, tzn. že tato kultura má poměrně značnou proteasovou aktivitu a rozkládá přítomné kaseiny na řadu peptidů vyšší a střední molekulové hmotnosti, z nichž řada může mít hořkou chuť. Zároveň má nízkou aminopeptidasovou aktivitu, a proto vznikající hořké peptidy nejsou v dostatečné míře odbourávány a jejich koncentrace v sýru postupně roste. Tento závěr odpovídá získanému senzorickému hodnocení sýrů vyrobených s touto kulturou, neboť ve všech hodnocených sýrech byla zaznamenána poměrně výrazná hořká chuť a průměrné bodové hodnocení po 120 dnech zrání bylo 4,2. Proto nedoporučujeme použití této kultury pro výrobu sýrů typu Gouda.

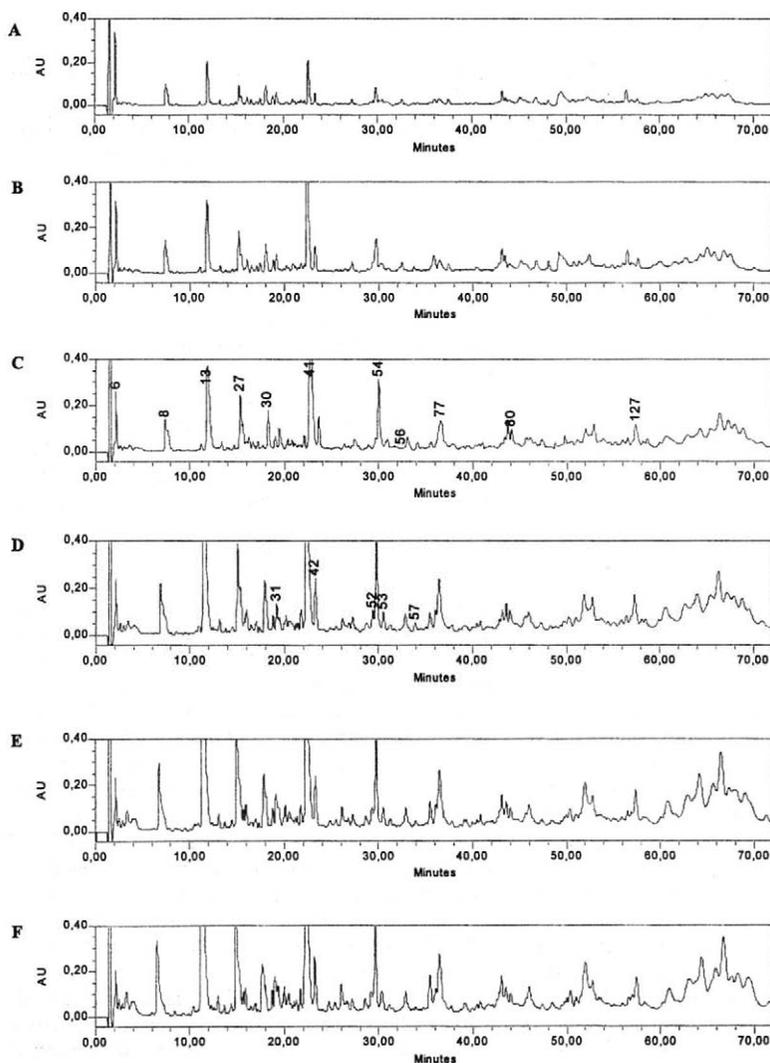
Sýry vyrobené s kulturou 933 vykazují nejvyšší průměrné hodnoty rozkladu bílkovin ve všech třech sledovaných parametrech, tzn. vyšší hladinu jak proteasové,

tak aminopeptidasové aktivity. Pravděpodobným důsledkem je, že vznikající hořké peptidy jsou působením aminopeptidas dostatečně rychle odbourávány, a proto byl sýr po 120 dnech zrání celkem příznivě sensoricky hodnocen s průměrem 2,2. U déle zrajících sýrů byla v některých případech zaznamenána hořká chuť, a proto doporučujeme používat tuto kulturu pouze pro krátkodobé zrání (do 60 dnů).

Sýry vyrobené s kulturou 1026 byly charakteristické nejnižším rozkladem bílkovin ve všech sledovaných skupinách. Při hodnocení sýrů po 60 dnech zrání byla často zaznamenána hořká chuť, jejíž intenzita klesala se vzrůstajícím stářím sýra a po 120 dnech zrání byla již neznatelná. S poklesem intenzity nahořklé chuti se zlepšovalo sensorické hodnocení a po 120 dnech zrání byl dosažený

průměr 1,3. Vzhledem k pomalejšímu rozkladu bílkovin a přítomnosti nahořklé chuti v ranějších fázích zrání je tato kultura vhodná pro dlouhodobé zrání sýrů typu Gouda z důvodů vhodných reologických vlastností těsta omezujících riziko vzniku prasklin a výborného sensorického hodnocení.

Sýry vyrobené s kulturou F 24 vykazovaly po 5 a 15 dnech zrání charakteristický rychlý rozklad bílkovin. U 30 dnů starých sýrů byly naměřeny průměrné hodnoty nižší než po 15 dnech zrání. Možným vysvětlením je částečné spotřebování volných aminokyselin a peptidů vzniklých působením intracelulárních enzymů mezofilních laktokoků kontaminující mikroflórou, především laktobacily a pediokoky. Hodnoty sledovaných parametrů rozkladu bílkovin v pozdějších fázích zrání se příliš nelišily



Stáří [dny] – Age [days]

A – 5; B – 15; C – 30; D – 60;
E – 90; F – 120

Obr. 1. Změny v obsahu peptidů během zrání sýrů vyrobených s kulturou F24 – Changes in the content of peptides during ripening of cheeses made with starter F24

Tab. 2. Obsah volných aminokyselin a amoniaku v sýrech typu Gouda vyrobených s různými druhy smetanových kultur během zrání sýrů (15, 30, 60, 90 a 120 dní) – Contents of free amino acids and ammonia in cheeses of Gouda type made with different starters during cheese ripening (15, 30, 60, 90 and 120 days)

Aminokyselina ²	Kultura ¹ 973					Kultura 933					Kultura 1026					Kultura 16					Kultura F24				
	15d	30d	60d	90d	120d	15d	30d	60d	90d	120d	15d	30d	60d	90d	120d	15d	30d	60d	90d	120d	15d	30d	60d	90d	120d
Alanin ³	1,42	1,36	2,63	4,48	5,15	1,26	2,16	2,79	4,82	6,36	0,95	1,08	1,42	1,70	2,78	0,90	1,19	2,02	2,79	3,20	1,14	1,78	1,65	2,68	3,42
Arginin ⁴	0,32	0,26	0,44	0,63	0,62	0,74	1,26	0,90	0,87	0,87	0,22	0,34	0,49	0,47	0,62	0,47	0,72	1,10	1,18	1,36	0,56	1,00	1,04	1,47	1,69
Glycin ⁵	0,47	0,60	1,27	2,53	2,69	0,85	1,76	2,77	4,92	6,56	0,59	0,91	1,22	1,62	2,59	0,46	0,80	1,58	2,52	2,93	0,76	1,30	2,30	1,97	2,65
Histidin ⁶	0,95	1,08	2,49	4,30	4,28	1,67	3,25	4,41	7,56	9,70	0,93	1,15	1,31	1,46	2,53	0,97	1,43	2,62	3,62	4,10	1,20	2,10	2,17	3,67	4,57
Isoleucin ⁷	0,47	0,50	1,30	2,24	2,43	0,92	1,57	2,02	3,79	5,23	0,24	0,35	0,36	0,78	1,53	0,38	0,53	1,08	1,63	2,01	0,52	0,92	0,97	1,72	2,28
Kys. asparagová ⁸	0,34	0,33	0,69	1,27	1,39	0,70	1,05	1,24	1,85	2,46	0,27	0,28	0,35	0,45	0,66	0,32	0,47	0,74	1,11	0,89	0,42	0,64	0,56	0,88	1,19
Kys. glutamová ⁹	2,62	2,66	5,89	9,76	9,97	4,10	8,65	12,35	20,39	27,47	2,21	2,92	4,09	5,08	8,23	2,95	4,74	8,35	11,57	14,24	3,16	5,72	6,34	10,54	13,82
Leucin ¹⁰	2,55	2,66	6,47	10,94	11,95	5,23	10,78	14,68	22,14	24,97	1,71	2,96	4,85	6,10	9,66	2,62	4,41	8,50	10,90	12,44	3,14	6,18	7,13	11,18	12,84
Lysin ¹¹	2,52	2,96	7,05	13,41	13,74	3,54	6,43	8,42	13,48	17,72	3,33	5,12	7,28	8,47	14,05	1,70	2,40	4,12	6,15	7,13	2,10	3,34	3,29	5,87	7,68
Methionin ¹²	0,37	0,45	1,13	2,09	2,35	0,43	0,95	1,57	3,01	4,37	0,17	0,29	0,51	0,64	1,29	0,29	0,48	1,02	1,55	1,97	0,40	0,74	0,83	1,58	2,08
Phenylalanin ¹³	1,81	2,03	4,90	8,25	8,57	2,28	4,57	5,96	8,77	11,04	1,01	1,77	2,96	3,70	5,57	1,24	2,06	3,89	5,04	5,94	1,42	2,82	3,04	4,95	6,24
Prolin ¹⁴	1,46	1,28	2,72	4,63	5,09	0,98	5,86	6,86	13,05	18,05	1,77	1,86	3,00	3,67	6,13	1,37	1,69	3,01	4,26	4,91	1,78	2,86	2,90	4,99	6,51
Serin ¹⁵	1,37	1,79	4,23	7,59	8,24	3,07	6,48	9,21	14,35	17,88	1,38	1,88	2,80	3,65	5,53	1,89	3,31	6,17	8,33	9,73	2,30	4,28	4,46	7,12	9,27
Threonin ¹⁶	0,88	0,91	2,04	3,67	4,33	1,11	2,24	3,53	6,42	8,76	0,63	0,81	1,23	1,51	2,62	0,67	1,03	1,89	2,81	3,54	0,76	1,28	1,35	2,38	3,25
Tyrosin ¹⁷	0,96	0,86	1,58	2,38	2,52	1,36	2,04	2,37	3,92	4,86	0,71	0,83	1,12	1,07	1,78	0,79	1,01	1,64	2,01	2,43	0,96	1,54	1,46	2,23	2,84
Valin ¹⁸	1,37	1,65	4,07	7,07	7,64	2,13	4,56	6,74	11,79	15,46	1,00	1,47	2,53	3,04	5,25	1,50	2,32	4,28	5,81	7,13	2,02	3,60	3,62	6,12	7,92
Amoniak ¹⁹	12,73	11,58	15,63	24,04	29,77	11,33	16,27	15,86	18,66	22,94	10,55	5,63	8,15	9,12	11,78	2,09	3,58	4,22	5,57	6,10	2,66	4,08	2,78	4,03	5,13
Suma (ak) ²⁰	19,88	21,37	48,89	85,25	90,94	30,38	63,60	85,81	141,13	181,77	17,11	24,02	35,52	43,42	70,82	18,49	28,60	52,01	71,29	83,96	22,64	40,10	43,11	69,36	88,25

Obsah aminokyselin a amoniaku je uveden v mmolech na kg sýra – Content of amino acid and ammonia are given in mmoles per kg of cheeses

¹starter; ²amino acid; ³alanine; ⁴arginine; ⁵glycine; ⁶histidine; ⁷isoleucine; ⁸aspartic acid; ⁹glutamic acid; ¹⁰leucine; ¹¹lysine; ¹²methionine; ¹³phenylalanine; ¹⁴proline; ¹⁵serine; ¹⁶threonine; ¹⁷tyrosine; ¹⁸valine; ¹⁹ammonia; ²⁰sum of amino acids

od hodnot pro kultury 933 a 16. Podobně jako u kultury 1026 se senzitivní hodnocení sýrů zlepšovalo s rostoucím stářím sýra. Proto pokládáme tuto kulturu za vhodnou pro dlouhodobější zrání, ale vzhledem k rychlejšímu rozkladu bílkovin by délka zrání neměla překročit čtyři měsíce.

Sýry vyrobené s kulturou 16 byly typické logaritmickým nárůstem sledovaných parametrů rozkladu bílkovin a výskytem netypické nepříjemné pražené chuti po 90 dnech zrání. Tato chuť společně s častým výskytem slabě nahořklé chuti byla příčinou nižšího průměrného hodnocení při senzitivní analýze (průměr 2,3 po 120 dnech zrání).

Obsah volných aminokyselin

V tab. 2 jsou uvedeny změny v zastoupení jednotlivých aminokyselin během zrání sýrů typu Gouda vyrobených s různými kulturami. Nejnižší hodnoty volných aminokyselin během zrání vykazovaly sýry vyrobené s kulturou 1026 a nejvyšší sýry vyrobené s kulturou 933. Kultury 16 a F 24 vykazovaly podobné hodnoty celkového obsahu volných aminokyselin. Mezi celkovým obsahem volných aminokyselin stanoveným metodou kapalínové chromatografie a obsahem PTA rozpustného dusíku existovala vysoká korelace ($r = 0,914$, $P < 0,05$).

Na základě těchto výsledků je možné konstatovat, že hodnota PTA rozpustného dusíku může relativně velmi dobře zachytit rozklad bílkovin na aminokyseliny, ale neumožňuje stanovit konkrétní příspěvek jednotlivých aminokyselin. Ačkoliv se koncentrace volných aminokyselin zpravidla zvyšovala s rostoucím stářím sýra, relativní podíl jednotlivých aminokyselin zůstával v podstatě konstantní. Ve všech sýrech bylo vyšší zastoupení kyseliny glutamové (11–17 %), leucinu (10–17 %) a lysinu (8–21 %) a početná byla také skupina aminokyselin tvořících 5–10% podíl celkového obsahu volných aminokyselin Phe, Pro, Ser a Val. Nejvýraznější rozdíly mezi sýry vyrobenými s různými kulturami byly zaznamenány v obsahu lysinu. U sýrů vyrobených s kulturou 1026 představoval lysin přibližně 20 % volných aminokyselin, zatímco u sýrů vyrobených s kulturami 933, 16 a F 24 pouze 10 %. U sýrů vyrobených s kulturami 933 a 1026 byl také zaznamenán vyšší podíl volného prolinu. Substráty obsahující lysin a prolin byly také přednostně hydrolyzovány intracelulární enzymatickou frakcí *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IFPL 359 (REQUENA *et al.* 1993). Sýry vyrobené s kulturou 973 se od ostatních lišily vyšším podílem phenylalaninu. Značné rozdíly mezi jednotlivými kulturami byly zaznamenány také v obsahu amoniaku. Tyto rozdíly mohou být zčásti způsobeny metabolismem argininu, neboť sýry vyrobené s kulturami 973, 933 a 1026 vykazující vyšší obsah amoniaku se od zbývajících vzorků liší nižším zastoupením argininu. Část přítomného argininu byla pravděpodobně metabolizována na citrulin, ornithin a amoniak. Potřebné enzymy vlastní *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, jeden ze základních druhů používaných při skládání smetanových kultur. Zajímavý je

prudký nárůst koncentrace volných aminokyselin po 60 dnech zrání u sýrů vyrobených s kulturou 933. To může souviset s autolýzou buněk zákysu (BIRKELAND *et al.* 1992; WILKINSON *et al.* 1994; CHRISTENSEN *et al.* 1995).

Změny v zastoupení ve vodě rozpustných peptidů

Na obr. 1 je zachycena separace peptidů rozpustných ve vodě pomocí kapalínové chromatografie na reverzní fázi u různě starých vzorků sýrů Gouda vyrobených s kulturou F24. Použitá metoda umožnila rozdělení vodního extraktu na více než 130 různých peptidů, přičemž řada z nich se objevuje již po pěti dnech zrání a jejich koncentrace během zrání postupně roste. V menším počtu se také vyskytují piky, jejichž výška během zrání klesá z důvodu jejich štěpení na produkty nižší molekulové hmotnosti. Předpokládá se, že velké nebo hydrofobní pep-

Tab. 3. Změny v procentuálním zastoupení celkové plochy peptidů během zrání sýrů typu Gouda – Changes in the percentage of total peptide area during ripening of cheeses of Gouda type

Kultura ¹	Stáří sýra [dny] ²	Procento acetonitrilu v eluentu ³			
		0–14	>14–24	>24–33	>33–40
973	5	25,5	27,8	15,7	30,8
	15	22,8	31,9	19,4	25,6
	30	20,7	30,8	18,7	29,5
	60	23,4	30,6	16,5	29,4
	90	24,6	29,5	15,2	30,1
1026	120	26,9	30,1	15,2	27,5
	5	33,2	21,8	17,8	27,2
	15	28,7	22,8	14,6	33,9
	30	29,4	23,3	13,1	34,2
	60	29,9	22,1	13,5	34,5
933	90	32,4	20,2	12,9	34,5
	120	34,2	19,1	13,0	33,7
	5	29,8	20,6	18,9	30,8
	15	23,3	21,4	18,5	36,5
	30	21,8	23,0	18,6	36,6
16	60	20,9	22,5	18,8	37,8
	90	22,7	22,0	17,6	37,8
	120	25,3	21,4	15,1	38,2
	5	31,3	28,0	17,9	22,9
	15	28,8	29,8	17,6	23,8
F24	30	24,4	31,3	17,1	27,2
	60	26,0	30,7	14,9	28,5
	90	27,9	29,2	13,7	29,3
	120	28,6	29,6	14,6	27,3
	5	27,2	22,5	22,8	27,6
1026	15	24,1	25,3	20,2	30,4
	30	25,0	26,9	16,8	31,4
	60	26,1	26,7	14,8	32,4
	90	29,0	26,0	14,1	30,9
	120	30,2	26,3	14,6	28,9

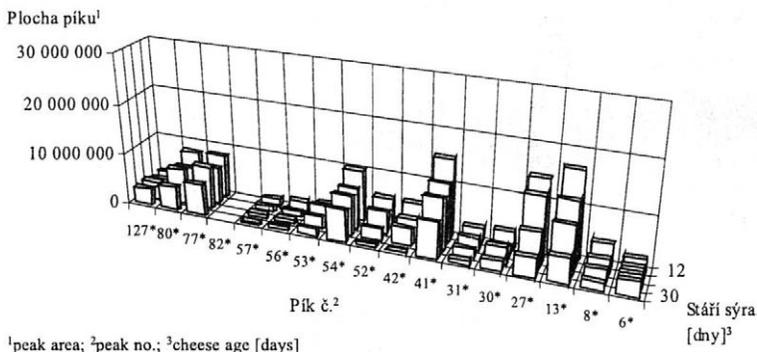
¹ starter; ² cheese age (days); ³ percentage of acetonitrile in eluent

tidy vykazují na reverzních fázích delší retenční časy a někteří autoři pokládají za hydrofobní všechny peptidy elující za tryptofanem (LAU *et al.* 1991), což jsou v našem případě peptidy elující po 17. minutě. Přítomnost hydrofobních peptidů v sýrech je spojována s hořkou chutí a jejich rozklad během zrání za vzniku hydrofilních peptidů přispívá ke vzniku typické chuti (ENGEL & VISSER 1994). V tab. 3 je zachycen podíl jednotlivých zón (definovaných obsahem acetonitrilu v eluentu) na celkové ploše pro jednotlivé kultury. První skupina, která zahrnuje hydrofilní peptidy, vykazuje podobný trend pro všechny kultury – zpočátku její podíl na celkové ploše klesá, ale v průběhu zrání se dříve nebo později začne opět zvyšovat. V počátečních fázích zrání dochází ke vzniku peptidů především působením syřidla a proteinyasy použité kultury. Rozdíly mezi kulturami projevující se různým podílem první skupiny na celkové ploše mohou být způsobeny rozdílnými aktivitami jejich aminopeptidas a rozdíly v citlivosti k autolýze (REQUENA *et al.* 1993; WILKINSON *et al.* 1994). Role aminopeptidasy *N Lactococcus lactis* v rozkladu nízkomolekulárních hořkých peptidů byla prokázána různými autory (BAANKREIS 1992; TAN *et al.* 1993).

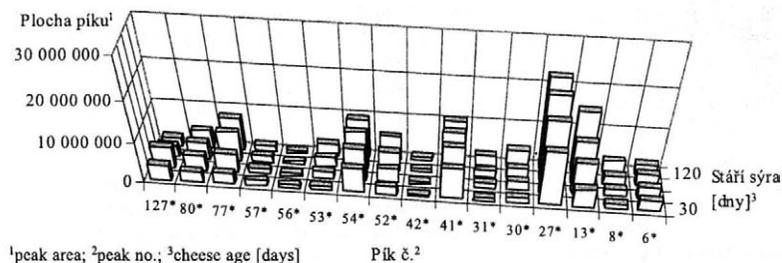
Nedostatečné odbourávání vznikajících hořkých peptidů způsobené nízkou aktivitou tohoto enzymu může být příčinou existence hořké chuti vyskytující se u sýrů vy-

robených s kulturou 973. Porovnání podílu jednotlivých zón na celkové ploše (tab. 3) u sýrů lišících se intenzitou hořké chuti však nevedlo k očekávaným výsledkům a proto jsme zvolili odlišný postup a sledovali změny v koncentraci jednotlivých peptidů. Po vyhodnocení chromatografických záznamů bylo evidentní, že sýry typu Gouda vyrobené s různými smetanovými kulturami obsahují řadu identických peptidů, ale v různých koncentracích. Tyto rozdíly mohou být také jednou z příčin odlišné senzoricke jakosti vyrobených sýrů.

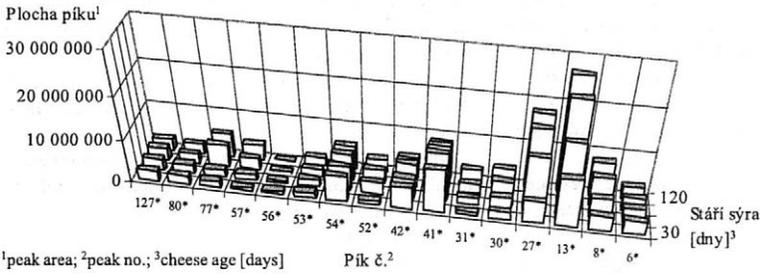
Proto byly vybrány takové píky, které se objevují na všech chromatogramech a liší se retenčním časem a celkovou plochou, tj. dá se předpokládat, že zvolený výběr tak zahrne jak hydrofobní, tak hydrofilní peptidy s různou molekulovou hmotností. Zvolené peptidy jsou popsány na obr. 1 a změny jejich koncentrací během zrání pro jednotlivé kultury zachycují obr. 2–6. Plochy většiny píků se u sýrů vyrobených s různými kulturami během zrání postupně zvyšovaly, přičemž rozdíly se objevovaly ve velikosti plochy a intenzitě nárůstu mezi jednotlivými odběry. Plocha řady píků mezi 90. a 120. dnem poklesla u několika vzorků pravděpodobně v důsledku jejich rozkladu přítomnými enzymy. Významnější rozdíly byly pozorovány především u píků 13, 27 a 41. Ve sledování souboru píků nebyla prokázána souvislost mezi výsledky senzorickeho hodnocení a plochou jednotlivých píků.



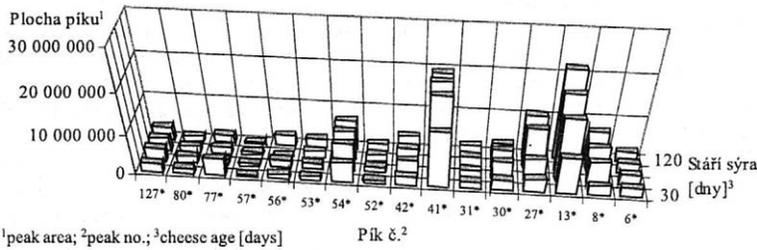
Obr. 2. Změny v obsahu některých vybraných peptidů během zrání sýrů typu Gouda vyrobených s kulturou 973 – Changes in the content of some peptides during ripening of cheese of Gouda type made with starter 973



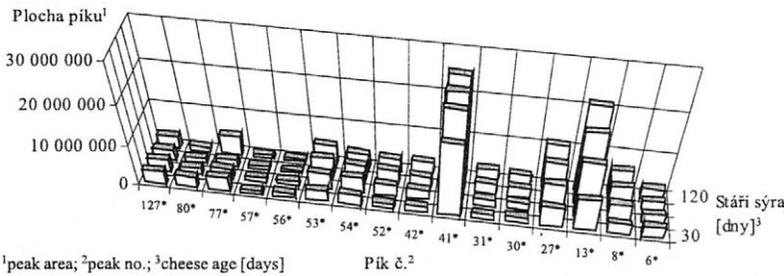
Obr. 3. Změny v obsahu některých vybraných peptidů během zrání sýrů typu Gouda vyrobených s kulturou 1026 – Changes in the content of some peptides during ripening of cheese of Gouda type made with starter 1026



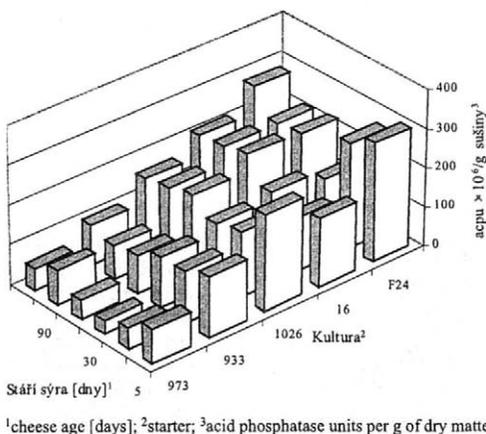
Obr. 4. Změny v obsahu některých vybraných peptidů během zrání sýrů typu Gouda vyrobených s kulturou 933 – Changes in the content of some peptides during ripening of cheese of Gouda type made with starter 933



Obr. 5. Změny v obsahu některých vybraných peptidů během zrání sýrů typu Gouda vyrobených s kulturou F24 – Changes in the content of some peptides during ripening of cheese of Gouda type made with starter F24



Obr. 6. Změny v obsahu některých vybraných peptidů během zrání sýrů typu Gouda vyrobených s kulturou 16 – Changes in the content of some peptides during ripening of cheese of Gouda type made with starter 16



Aktivita kyselé fosfatasy

Hodnoty aktivity kyselé fosfatasy v jednotlivých vzorcích byly nejvíce ovlivněny použitou kulturou a stářím sýra. Získané hodnoty pro jednotlivé vzorky jsou uvedeny na obr. 7. Ve většině případů byla hodnota aktivity kyselé fosfatasy nejvyšší po 5 dnech zrání a postupně klesala do 30. dne, mezi 30. a 60. dnem opět rostla. Mezi 60. a 120. dnem zrání byly patrné různé trendy, od mírného růstu či stagnace až po mírný pokles.

Nejvyšších hodnot aktivity po 5 a 120 dnech zrání dosahovaly sýry vyrobené s kulturou F 24 ($3,04 \times 10^{-4}$;

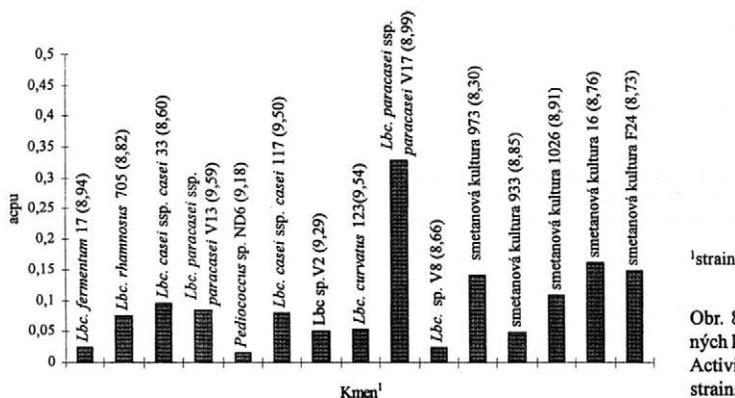
Obr. 7. Změny v aktivitě kyselé fosfatasy během zrání sýrů typu Gouda vyrobených s různými druhy smetanových kultur – Changes in the activity of acid phosphatase during ripening of cheeses of Gouda type made with different starters

$2,80 \times 10^{-4}$ acpu/g sušiny), nejnižších s kulturou 973 ($0,88 \times 10^{-4}$; $0,56 \times 10^{-4}$ acpu/g sušiny). Hodnoty aktivity kyselých fosfatasy naměřené v sýrech jen zčásti souvisely s použitou smetanovou kulturou (obr. 7 a 8). Nejvýznamnější rozdíly mezi aktivitou kyselých fosfatasy v sýrech a aktivitou vlastní kultury byly pozorovány u kultur 973 a 933. Podobné výsledky byly dosaženy při porovnávání aktivity kyselých fosfatasy řady různých kultur používaných pro výrobu čedaru a sýrů vyrobených s těmito kulturami (DULLEY & KITCHEN 1973). U některých kultur přes výrazné rozdíly v hodnotách aktivity kyselých fosfatasy byly hodnoty naměřené v sýrech prakticky totožné. ANDREWS a ALICHANIDIS (1975) to vysvětlují působením dalších faktorů ovlivňujících stanovení hodnoty aktivity, např. aktivačním efektem molekul kaseinu. Podle našeho názoru je třeba vzít v úvahu možný příspěvek sekundární či kontaminující mikroflóry, která během zrání může docílit řádově stejných počtů jako mikroorganismy přidávané ve formě zákyasu. Mikroorganismy podílející se na sekundární fázi zrání mohou být zodpovědné za nárůst hodnot aktivity kyselých fosfatasy v sýrech především v pozdějších fázích zrání, tj. v době, kdy docílují řádově významných počtů. Do této skupiny lze zařadit především mezofilní laktobacily, které se v sýrech často objevují jako kontaminace z vnějšího prostředí a během zrání dochází k nárůstu jejich počtu z jednotek až desítek na stamiliony ktb v 1 g sýra (BEUVIER *et al.* 1997). Měřením aktivity několika kmenů rodu *Lactobacillus* a *Pediococcus* izolovaných ze sýrů byl zjištěn velký rozptyl aktivity u jednotlivých kmenů. Na obr. 8 jsou graficky znázorněny hodnoty aktivity kyselých fosfatasy různých kmenů mléčných bakterií po 20 h kultivace v obnoveném odstředěném mléce obohaceném kvasničním extraktem. Zároveň s měřením enzymatické aktivity byly stanoveny počty ktb v 1 ml mléka, které jsou uvedeny v log ktb v závorkách za názvem kmene. Testované kultury se z hlediska aktivity kyselých fosfatasy dosti lišily, v případě smetanových kultur byla maximální hod-

nota naměřena u kultury 16 (0,161 acpu) a minimální u kultury 933 (0,048).

Vzhledem k malému počtu testovaných smetanových kultur byl rozptyl výsledků podstatně nižší než výsledky, které uvádějí DULLEY a KITCHEN (1993), kteří zaznamenali 20–40násobné rozdíly v aktivitě kultur používaných pro výrobu čedaru. Testované kmeny laktobacilů a pediokoků se výrazněji lišily v hodnotách aktivity, přičemž maximální hodnota byla získána pro *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* V17 (0,329) a minimální pro *Lbc. fermentum* 17 (0,025), *Lbc. sp.* V8 (0,024) a *Pediococcus sp.* ND6 (0,016). Kmeny s vyšší aktivitou kyselých fosfatasy mohou odštěpit fosfátové skupiny z vyšších peptidů a tím zpřístupnit vazbu -CO-NH- řadě extracelulárních a intracelulárních enzymů a umožnit jejich postupné odbourávání. Z obr. 1 je patrné, že koncentrace některých peptidů se během zrání zvyšuje. Řada z nich vykazuje hořkou chuť, která je při překročení určité koncentrace zaznamenána při sensorickém hodnocení sýrů. Odstranění fosfátové skupiny z takových peptidů může usnadnit jejich další rozklad a tím snížit jejich negativní vliv na chuť sýra (DULLEY & KITCHEN 1973). Nami získaná data ukazují, že sýry s vyšší aktivitou fosfatasy byly častěji lépe sensoricky hodnoceny ($r = 0,436$). Získaná hodnota korelace je však poměrně nízká a jednoznačně neprokazuje závislost mezi výsledkem sensorického hodnocení a aktivitou kyselých fosfatasy v sýrech. Výsledek může být poněkud zkreslen tím, že výsledek sensorického hodnocení zahrnuje celkovou jakost sýra a ne pouze intenzitu hořké chuti.

Pro objasnění role kyselých fosfatasy v procesu zrání je zapotřebí získat rozsáhlejší soubor dat doplněný o sledování změn aktivity kyselých fosfatasy v použité surovině, sledování vývoje kontaminující mikroflóry, včetně vlivu přídavku kmenů se známou hodnotou aktivity. Z tohoto hlediska by bylo také potřebné porovnání změn v obsahu a zastoupení fosfopeptidů v sýrech významně se lišících aktivitou tohoto enzymu.



1 strain

Obr. 8. Aktivita kyselých fosfatasy u různých kmenů bakterií mléčného kvašení – Activity of acid phosphatase in different strains of lactic acid bacteria

Literatura

- ADDEO F., CHIANESE L., SALZANO A., SACCHI R., CAPUCIO U., FERRANTI P., MALORNI A. (1992): Characterization of the 12% trichloroacetic acid-insoluble oligopeptides of Parmigiano reggiano. *J. Dairy Res.*, **59**: 401–411.
- ANDERSCH M. A., SCZCYPINSKI A. J. (1947): Use of *p*-nitrophenylphosphate as a substrate in determination of serum acid phosphatase. *Amer. J. Clin. Pathol.*, **17**: 571–574.
- ANDREWS A. T., ALICHANIDIS E. (1975): Acid phosphatase activity in cheese and starters. *J. Dairy Res.*, **42**: 327–339.
- BANKREIS R. (1992): The role of lactococcal peptidases in cheese ripening. Doctoral Thesis. Univ. Amsterdam.
- BERSANI C., BOTTAZZI V. (1978): Caratteristiche dei batteri lattici presenti nelle colture naturali in siero. *Ann. Microbiol. Enzimol.*, **28**: 57–61.
- BEUVIER E., BERTHAUD K., CEGARRA S., DASEN A., POCHECHET S., BUCHIN S., DUBOZ G. (1997): Ripening and quality of Swiss-type cheese made from raw, pasteurized or micro-filtered milk. *Int. Dairy J.*, **7**: 311–323.
- BIRKELAND S. E., ABRAHAMSEN R. K., LANGSRUD T. (1992): Accelerated cheese ripening: use of Lac' mutants of lactococci. *J. Dairy Res.*, **59**: 389–400.
- BOCKELMANN W. (1995): The proteolytic system of starter and non-starter bacteria: Components and their importance for cheese ripening. *Int. Dairy J.*, **5**: 977–994.
- DULLEY J. R., KITCHEN B. J. (1972): Phosphopeptides and bitter peptides produced by rennet. *Aust. J. Dairy Technol.*, **27**: 10–11.
- DULLEY J. R., KITCHEN B. J. (1973): The acid phosphatase of Cheddar cheese. *Aust. J. Dairy Technol.*, **28**: 114–116.
- ENGELS W. J. M., VISSER S. (1994): Isolation and comparative characterization of components that contribute to the flavour of different types of cheese. *Neth. Milk Dairy J.*, **48**: 127–140.
- EXTERKATE F. A. (1995): Lactococcal cell envelope proteinases: Differences, calcium-binding effects and role in cheese ripening. *Int. Dairy J.*, **5**: 995–1018.
- FERRANTI P., BARONE F., CHIANESE L., ADDEO F., SCALONI A., PELLEGRINO L., RESMINI P. (1997): Phosphopeptides from Grana Padano cheese: nature, origin and changes during ripening. *J. Dairy Res.*, **64**: 601–615.
- FOX P. F., LAW J., MC SWEENEY P. L. H., WALLACE J. (1993): Biochemistry of cheese ripening in Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Vol. 1. London, Chapman & Hall: 389–438.
- CHRISTENSEN J. E., JOHNSON M. E., STEELE J. L. (1995): Production of Cheddar cheese using a *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* SK11 derivative with enhanced aminopeptidase activity. *Int. Dairy J.*, **5**: 367–379.
- LARSEN R. F., PARADA J. L. (1988): Acid phosphatases in some cheeses and starters. *Sci. Alim.*, **8**: 285–294.
- LAU K. Y., BARBANO D. M., RASMUSSEN R. R. (1991): Influence of pasteurization of milk on protein breakdown in Cheddar cheese during aging. *J. Dairy Sci.*, **74**: 727–740.
- LAW J., HAANDRIKMAN A. (1997): Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.*, **7**: 1–11.
- MARTLEY F. G., LAWRENCE R. C. (1972): Cheddar cheese flavour. II. Characteristics of single strain starters associated with good or poor flavour development. *NZ J. Dairy Sci. Technol.*, **7**: 38–44.
- MORGAN S., O'DONOVAN C., ROSS R. P., HILL C., FOX P. F. (1995): Significance of autolysis and bacteriocin-induced lysis of starter cultures in Cheddar cheese ripening. *Proc. 4th Cheese Symp., MoorePark*: 51–60.
- REQUENA T., PELÁEZ C., FOX P. F. (1993): Peptidase and proteinase activity of *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*. *Z. Lebensm.-Unters. Fors.*, **196**: 351–355.
- ROUDOT-ALGARON F., LE BARS D., KERHOAS L., EINHORN J., GRIPON J. C. (1994): Phosphopeptides from Comté Cheese: Nature and Origin. *J. Food Sci.*, **59**: 544–547, 560.
- TAN P. S. T., VAN KESSEL T. A. J. M., VAN DE VEERDONK F. L. M., ZUURENDONK P. F., BRUINS A. P., KONINGS W. N. (1993): Degradation and debittering of a tryptic digest from β -casein by aminopeptidase N from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* WG2. *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**: 1430–1436.
- WILKINSON M. G., GUINEE T. P., O'CALLAGHAN D. M., FOX P. F. (1994): Autolysis and proteolysis in different strains of starter bacteria during Cheddar cheese ripening. *J. Dairy Res.*, **61**: 249–262.

Došlo 9. 11. 1998

Přijato k publikování 7. 4. 1999

Kontaktní adresa:

Ing. VLADIMÍR DRÁB, Milcom, a. s., Výzkumný ústav mlékárenský, Soběslavská 841, 390 02 Tábor, Česká republika, tel.: + 420 361 25 27 83, fax: + 420 361 25 27 83, e-mail: VUM@IOL.cz

Vliv vysokého tlaku na *Carpoglyphus lactis* L. (Acaridae: Carpo- glyphidae)*

EVA ŽDÁRKOVÁ¹, JAN STROHALM² and MILAN HOUŠKA²

¹Research Institute for Crop Production, Prague-Ruzyně; ²Food Research Institute Prague,
Prague, Czech Republic

Abstract

ŽDÁRKOVÁ E., STROHALM J., HOUŠKA M. (1999): Effect of high pressure on *Carpoglyphus lactis* L. (Acaridae: Carpo-
glyphidae). Czech J. Food Sci., 17: 235–237.

High pressure can control stored product mites particularly *Carpoglyphus lactis* L. Mortality of mites is directly proportional to the applied pressure and time of exposure. One hundred percent mortality was achieved after application of 100 MPa for 25 min, 150 MPa for 10 min or 200 MPa for 2 min. High pressure might be one of the ways of nonchemical control methods for stored product mites under special circumstances.

Key words: *Carpoglyphus lactis*; dried fig; mortality; temperature; high pressure; LD₅₀

Souhrn

ŽDÁRKOVÁ E., STROHALM J., HOUŠKA M. (1999): Vliv vysokého tlaku na *Carpoglyphus lactis* L. (Acaridae: Carpo-
glyphidae). Czech J. Food Sci., 17: 235–237.

Bylo zjištěno, že roztoče druhu *C. lactis* lze hubit vysokým tlakem. Mortalita roztočů se zvyšuje s expozicí a s přibývajícím tlakem – např. 100% mortalita nastává při tlaku 100 MPa po 25 min, při tlaku 150 MPa po 10 min a při tlaku 200 MPa po 2 min. Vysoký tlak je další z cest nechemického hubení skladištních roztočů v potravinách.

Klíčová slova: roztoč; sušený fik; mortalita; teplota; vysoký tlak; LD₅₀

Skladištní roztoči patří k významným škůdcům skladovaných produktů. Pro svou malou velikost (měří 0,3 mm) unikají pozornosti skladníků a v době, kdy se prozradí nasládlým pachem a růžovým prachem, je surovina už silně znehodnocená. Kromě toho tvoří některé druhy skladištních roztočů zvláštní trvalé stadium (hypopus), které odolá všem nepříznivým vlivům a komplikuje i úspěšné hubení roztočů. Chemické způsoby hubení zatěžují životní prostředí a selektují rezistentní kmeny, a proto je nutné se věnovat výzkumu nových způsobů hubení, hlavně biologických a fyzikálních. Zatímco biologický boj proti skladištním roztočům je propracovanou a do praxe zavedenou metodou (PULPÁN, VERNER 1965), fyzikální metody (např. řízená atmosféra a ionizační záření) se u nás používají víceméně nahodile vzhledem k vysokým nákladům a nevyhovujícím skladům.

ŽDÁRKOVÁ a VORÁČEK (1993) studovali vliv nízkého tlaku, nízké a vysoké teploty i světla na mortalitu sedmi druhů skladištních roztočů. Nejodolnější byl *Carpoglyphus lactis* L. Tento druh se téměř výhradně vyskytu-

je na surovinách, které obsahují kyselinu mléčnou, octovou a jantarovou, jako je sušené ovoce, medové plástve, staré marmelády a hnojící brambory. Z velkých slinných žláz vylučuje tekutinu fungicidního charakteru, která zabraňuje plesnivění napadených surovin.

Cílem této práce bylo studium mortality *Carpoglyphus lactis* L. vlivem vysokého tlaku, aby bylo možné doplnit vliv významného fyzikálního jevu na tohoto odolného roztoče.

MATERIÁL A METODY

K pokusu byl použit vysokotlaký lis CYX 6/0103. Zařízení je určeno pro provádění zkoušek a pokusů v oblasti vysokotlaké úpravy potravin. Vzorky se vkládají do lisovací komory a pomocí tlakového média (pitné vody) se podrobují účinkům vysokého tlaku. V pracovní komoře o objemu 1,2 l (výrobce vyrábí i lisy se 150litrovou pracovní komorou, která má širší praktické uplatnění) byla teplota vody 22 °C a rozsah pracovních tlaků byl 50 až 600 MPa, tj. 500–6 000 bar. Přiklon přístroje, jehož výrob-

*Práce byla dělána za finanční podpory grantu MZe ČR č. EP 096 0986259.

cem je ŽDAS a.s. Žďár nad Sázavou, je 7,5 kW a má hmotnost 2 300 kg.

Jako materiál byly použity sušené fíky, které byly napadeny druhem *C. Iactis*. Na jednotlivých fíkách nebo jejich částech byli spočítáni roztoči. Počet roztočů použitých v pokuse je uveden v tab. 1. Fíky byly vkládány do fóliových sáčků 20 PA/70 PE o rozměrech 100 × 50 mm a bezvakuově uzavřeny na svářecím přístroji. Zhotovené vzorky byly okamžitě vkládány do tlakové komory a podrobny ošetření vysokým tlakem. Rychlost náběhu byla závislá na schopnostech zařízení – izostatickém lisu – a pohybovala se v rozsahu 11,1–14,6 MPa/s, rychlost poklesu se řídila velikostí škrcení dekompresního ventilu ručně a pohybovala se v rozsahu 10–16,6 MPa/s. Náběh i pokles tlaku se pohyboval v rozsahu 4–30 s. Po ošetření

byly vzorky ponechány ve fóliovém obalu při teplotě 22 °C a po 24 hodinách byly fíky s roztoči vyjmuty a spočítán počet živých roztočů. Kontrolní ošetřené vzorky byly uloženy ve stejných podmínkách jako vzorky ošetřené. Při expozici 1, 2, 5, 10, 15, 20 a 25 min byli roztoči podrobni tlaku 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 300 a 400 MPa. Každá kombinace měla dvě opakování. Mortalita byla statisticky vyhodnocena probitovou analýzou a byly vypočítány hodnoty LD₅₀ a LD₉₅ (dávka MPa, při které uhynie 50 nebo 95 % jedinců za určitou dobu).

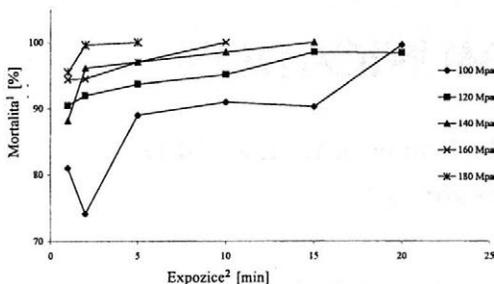
VÝSLEDKY A DISKUSE

Mortalita roztočů se zvyšuje s tlakem a s délkou expozice. Při expozici 1 min nastává 100% úhyn roztočů až při

Tab. 1. Počet roztočů na sušených fíkách před ošetřením vysokým tlakem a po něm a jejich mortalita – Number of mites in dried figs before treatment with high pressure and after it, and their mortality

Dávka ¹ [MPa]	Exp. ² 1 min	Mort. ³ [%]	Exp. 2 min	Mort. [%]	Exp. 5 min	Mort. [%]	Exp. 10 min	Mort. [%]	Exp. 15 min	Mort. [%]	Exp. 20 min	Mort. [%]	Exp. 25 min	Mort. [%]
100 před ⁴	265	81	335	74,1	500	89	145	91	360	90,3	300	99,6	550	100
po ⁵	51		87		55		13		35		1		0	
110 před	620	83,1	440	91,5	250	92,8	250	94,8	370	98,1	550	98,4		
po	105		37		18		13		7		9			
120 před	160	90,5	50	92	80	93,7	165	95,1	260	98,5	750	98,7		
po	15		4		5		8		4		10			
130 před	130	88,5	160	90,6	300	96,6	450	97,5	380	99,4	550	100		
po	15		15	10	11	2	0							
140 před	720	88,2	310	96,1	680	97	350	98,5	500	100				
po	85		12		20		5		0					
150 před	200	90	360	95,8	600	96,6	1400	100						
po	20		15		20		0							
160 před	450	94,4	185	94,5	200	97	600	100						
po	25		10		6		0							
170 před	300	93,3	190	92,1	180	99,4	550	100						
po	20		15		1		0							
180 před	400	95,5	240	99,6	150	100	850	100						
po	18		1		0		0							
190 před	240	95,8	220	100	120	100								
po	10		0		0									
200 před	700	97,1	570	100	400	100								
po	18		0		0									
300 před	105	100	200	100										
po	0		0											
400 před	290	100	240	100										
po	0		0											

¹dose; ²application; ³mortality; ⁴before treatment; ⁵after treatment

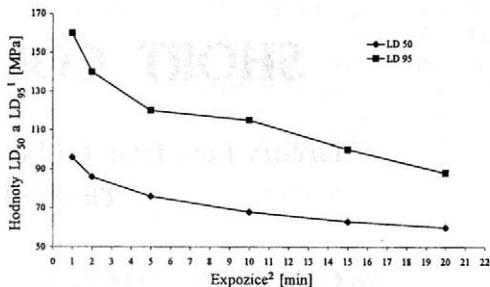


¹mortalita; ²application

Obr. 1. Mortalita *Carpoglyphus lactis* po ošetření vysokým tlakem – *Carpoglyphus lactis* mortality after application of high pressure

tlaku 300 MPa, při expozici 2 min již při tlaku 190 MPa, zatímco při tlaku 100 MPa až po 25 min (tab. 1 a obr. 1). Na obr. 2 jsou uvedeny hodnoty LD₅₀ a LD₉₅ (MPa) při testovaných expozicích. Největší rozdíly v hodnotách LD jsou mezi 1. a 5. minutou expozice. Tak např. při expozici 1 min uhynie 50 % jedinců při tlaku 96 MPa a 95 % při tlaku 160 MPa, při expozici 5 min uhynie 50 % jedinců při tlaku 76 MPa a 95 % při 120 MPa. Po 20 min expozice uhynie 50 % jedinců při tlaku 60 MPa a 95 % při tlaku 88 MPa.

Druh *C. lactis* je velice odolný i vůči nízkým tlakům, např. k 85% mortalitě dochází po 96 h při tlaku 0,0126 MPa. Po 24 h téhož tlaku je 2% úhyn, zatímco u jiných druhů acaroidních roztočů, např. u *Acarus siro* je mortalita 100%. Rovněž tak je odolný i vůči nízkým a vysokým teplotám. Např. při teplotě -15 °C a expozici 1 h je mortalita 10%, při teplotě +45 °C a téže expozici je 30% a 100% mortalita nastává až po 1 h v teplotě 55 °C.



¹mortalita; ²application

Obr. 2. Hodnoty LD₅₀ a LD₉₅ při různé expozici – Values LD₅₀ and LD₉₅ at different applications

Závěr

Bylo zjištěno, že roztoče druhu *C. lactis* lze hubit vysokým tlakem. Mortalita roztočů se zvyšuje s expozicí a s přibývajícím tlakem. Tak např. 100% mortalita nastává při tlaku 100 MPa po 25 min, při tlaku 150 MPa po 10 min a při tlaku 200 MPa po 2 min. Vysoký tlak je další z cest nechemického hubení skladištních roztočů v potravinách.

Literatura

- PULPÁN J., VERNER P. H. (1965): Control of tyroglyphoid mites in stored grain by the predatory mite *Cheyletus eruditus* (Schränk). *Can. J. Zool.*, **43**, 417–432.
- ŽDÁRKOVÁ E., VORÁČEK V. 1993: The effects of physical factors on survival of stored food mites. *Exp. Appl. Acarol.*, **17**: 197–204.

Došlo 4. 8. 1998

Přijato k publikaci 3. 11. 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 21, fax: + 420 2 70 19 83, e-mail: m.houska@vupp.cz

SHORT COMMUNICATION

Mercury Loss from Edible Mushrooms after their Model Thermal Treatment*

JIRÍ CIBULKA¹, EVA ČURDOVÁ², DANIELA MIHOLOVÁ³ and ILONA STĚHULOVÁ¹

¹Czech University of Agriculture in Prague – Department of Veterinary Sciences, Prague;

²Institute of Chemical Technology – Department of Analytical Chemistry, Prague; ³Czech University of Agriculture in Prague – Department of Chemistry, Prague, Czech Republic

Abstract

CIBULKA J., ČURDOVÁ E., MIHOLOVÁ D., STĚHULOVÁ I. (1999): Mercury loss from edible mushrooms after their model thermal treatment. Czech J. Food Sci., 17: 239–240.

Our pilot model study on mercury loss from edible mushrooms after their thermal treatment has proved that about one third (34.3%) of naturally bound or spiked mercury evaporates during 20 minutes of thermal treatment at the temperature of 300°C. Therefore, thermal treatment of edible mushrooms, for example, pan-frying, can decrease the mercury burden of human body. This experiment was performed using edible mushroom homogenate with known content of mercury and with the homogenate samples spiked with different doses of mercury.

Key words: edible mushrooms; mercury contamination; thermal treatment; mercury loss

Edible mushrooms were collected at various localities of the Czech Republic during 1994 to 1997. Three localities were selected based on available data concerning the status of forest damage. The localities were generally classified as the places with strongly and medium impaired forest stands due to the contamination of the environment, and intact forest stands (ANONYMUS 1988). The aim of the study was to monitor the contents of contaminating elements in common edible mushrooms and to evaluate the findings in relation to the valid hygienic normative and to the forest stand health status that is influenced by various immission loads. In some cases, higher contamination of various species of edible mushrooms was detected. These results were presented at Mikroelementy (Microelements) 1997 international conference (CIBULKA *et al.* 1997).

It has been repeatedly documented that some species of edible mushrooms may cumulate significant amounts of foreign elements (for example, *Boletus*, *Xerocomus*, *Agaricus*, and *Macrolepiota* species). Mushroom picking and increased seasonal consumption of wild edible mushrooms belong to very popular hobbies in the Czech Repub-

lic. Therefore, the monitoring of hygienic quality of edible mushrooms is very important with respect to a possible burden of the consumers. The detailed literature data review was published by the authors elsewhere (CIBULKA *et al.* 1996) jointly with the discussion of broader aspects of this problem area (CIBULKA 1996).

Currently, the question of possible losses of volatile elements (particularly mercury) from edible mushroom body mass during its thermal treatment has been discussed at professional forum in the last years. After studying available scientific literature, it was found out that there is a lack of concrete and exploitable data related to this problem. ZURERA *et al.* (1986) in their work on mercury content in Spanish mushrooms referred to WENNING *et al.* (1978), who published the fact that the losses of mercury from edible mushrooms during their kitchen processing are about 70%. According to the quoted author, this high loss of toxic mercury substantially decreased a risk of intoxication in the case of repeated consumption of larger amounts of such contaminated mushrooms.

KOPLÍK *et al.* (1994) quoted less recent literature (HERNANDEZ *et al.* 1988) and they stated that the mercury los-

*This research was financed from the internal grant No 236-10-17396/0 of the Faculty of Agronomy of the Czech University of Agriculture in Prague.

ses due to various procedures of thermal treatment of fish (frying and baking of anchovies, sardines and tuna fish) varied about the average of 30% from the original total content of Hg.

The allowable limits (in mg/kg of fresh material) of mercury in edible mushrooms (fresh mushrooms and preserved products made of them) are listed in the Act of Foodstuffs N° 298/1997 of December 12, 1997 and in its appendixes. This law sets the maximum content of mercury in edible mushrooms to 0.1 mg/kg of fresh weight. This value can be calculated to dry matter by multiplying it by 10 since mushrooms have about 10% and less of dry matter (in the case of the quoted normative, it means the maximum of 1.0 mg Hg/kg of dry matter, LEPŠOVÁ & KRÁL 1990).

MATERIAL AND METHODS

Mushrooms (*Xerocomus badius*, *Xerocomus chrysenteron*) were collected during the fruiting season of 1997 and the samples were stored at the temperature of -20°C in a freezer. Before the analysis, the thawed samples (both caps and stalks) were homogenised in the ETA mixer for 10 minutes. Such prepared mash homogenate of the mixture of edible mushrooms served as a mushroom model matrix. Different amounts of mercury were added into the separated portions (50 g) of the homogenate in the form of mercury (II) solution at the level of 1, 10 and 100 mg Hg per kg of dry matter. The addition of mercury was done in the form of basic solution (1000 ± 2 mg Hg/l in 5% nitric acid, Merck, Germany). This basic solution was diluted into two further concentrations (100 and 10 mg Hg/l) using deionised water. The volume of 0.5 ml of these solutions was added to each experimental sample and 0.5 ml of deionised water was added to the control samples.

In this way, the following sets of four model samples were prepared, 50 g each:

- samples with natural content of Hg only
- samples with natural content of Hg + 1 mg Hg/kg of dry matter
- samples with natural content of Hg + 10 mg Hg/kg of dry matter
- samples with natural content of Hg + 100 mg Hg/kg of dry matter

The content of Hg in these samples was determined before their thermal treatment. Thermal treatment of the sam-

ples was performed by heating the samples in beakers of 250 ml at the hot plate temperature of 300°C (the actual temperature of the mixed material inside the beaker was not measured) under continuous stirring using a glass stick for 20 minutes. This process should simulate common thermal treatment of edible mushrooms. After finishing thermal treatment, the same analytical method was used for repeated determination of mercury content in the individual samples. The content of dry matter of the individual samples was also currently determined.

Chemical Analysis

The homogenate samples (100 mg or 4 mg) with and without the mercury additions, before and after thermal treatment were analysed employing the AMA-254 mercury analyser and using a routine procedure. The obtained results were calculated and expressed in mg per 1 kg of dry matter.

Quality Control and Quality Assurance (QC/QA) of the Analytical Data

The QC/QA of the analytical data of the mushroom samples was done by the simultaneous triple analysis of the Czech CRM (TY-SET, TY-1 Yeast) certified reference material. All results were acceptable [mg/kg]:

CRM Yeast TY-1		
	Certified	Measured
Hg	0.063 ± 0.008	0.072 ± 0.003
	after treatment	0.054 ± 0.003

RESULTS AND DISCUSSION

The results obtained are arranged in the following Table 1. The average content of dry matter of the analysed samples was 9%.

It is obvious from the listed results that at the higher levels of Hg addition (100 mg/kg) the Hg actual measured content was higher than the theoretically calculated level. Certainly here, and even in other cases, (for example, measured 17.9 mg Hg after the addition of 10 mg Hg to the homogenate with its original mercury content of 1.8 mg Hg) probable non-homogeneity of the mushroom mixture played its role due to rather coarse cutting in the mixer. Nevertheless, we are convinced that our results are usable for orientation assessment of the studied problem.

Table 1. Mercury content [mg/kg] in mushroom samples (K = without Hg addition, P = with Hg addition, 0 = without thermal treatment, S = with thermal treatment, arithmetic mean from three measurements and standard deviation)

Hg addition [mg]	Sample K						Sample P					
	0		0		0		1		10		100	
Treatment 0	2.45	0.83	1.83	0.32	1.76	0.12	3.54	0.61	17.91	2.08	215.90	24.32
S	1.26	0.06	1.31	0.37	1.10	0.28	2.23	0.29	13.73	4.26	148.52	11.13
Hg loss [%]	48.6		28.4		37.5		37.0		23.3		31.2	

It is clear that the highest mercury losses were in the samples with the lowest addition of mercury and the lowest in the samples with the highest Hg addition. This fact cannot be uniquely explained based on the results of our study, particularly, when the set of control samples (without any mercury addition) did show the same tendency. Nevertheless, it is possible to object that the form of Hg addition (solution of mercury II) and its interaction with the matrix of mushroom homogenate are different compared to the naturally bound element. Therefore, it would be ideal to have at our disposal one mushroom species with various natural contents of mercury in the orders of units, tens and hundreds of mg and to perform a similar study using these samples. However, it was not possible for us but we do realise this drawback of our study.

The main result of our work was the fact that there was a decrease in mercury content by the average of 30.6% in all experimentally contaminated samples after their thermal treatment. In all samples without any mercury addition and with their natural level of Hg 2.04 mg Hg/kg of dry matter there was a loss of mercury at the level of about 38.2% after their thermal treatment. Therefore, it can be generally stated that the total average loss of Hg due to performed thermal treatment was at the level of about one third (34.3%). This value is very close to the results obtained during the evaluation of the mercury losses during fish thermal treatment (KOPLÍK *et al.* 1994) but it does not reach the level of about 70% as cited by ZURERA *et al.* (1986).

References

- ANONYMUS (1988): Metodické návody a doporučení. Metodický návod pro klasifikaci poškození lesních porostů. Věstník MLVH ČR, Part 5–6.
- CIBULKA J. *et al.* (1996): Cadmium, lead, mercury and caesium levels in wild mushrooms and forest berries from different localities of the Czech Republic. *Sci. Agric. Bohem.*, 27: 113–129.
- CIBULKA J. (1996): Cizorodé prvky v houbách. *Vesmír*, 75: 389–390.
- CIBULKA J. *et al.* (1997): Obsah olova, kadmia, rtuti a cesia v houbách a lesních půdách z různých lokalit České republiky (situace v roce 1996). In: Mezinár. Konf. Mikroelementy '97, 11.–12. září 1997, České Budějovice: 66–70.
- HERNANDEZ G., MARTINEZ M. C., MMASOUD T. A. (1988): Variación en la cantidad de mercurio en muestras de pescado sometidas a diversos procesos culinarios. *Anal. Bromatol.*, 40: 291.
- KOPLÍK R., PRUGAR J., DAVÍDEK J. (1994): Part K. Other toxic elements. In: DAVÍDEK J.: *Natural Toxic Compounds*. CRC Press.
- LEPŠOVÁ A., KRÁL R. (1988): Lead and cadmium in fruiting bodies of macrofungi in the vicinity of a lead smelter. *Sci. Tot. Envir.*, 76: 129–138.
- WENNING R., WENNIG-BATTIN T., JUNGBLUT F. (1978): Champignons toxiques. *Masson*, Paris.
- ZURERA, G. RINCON F. ARCOS F. POZO-LORA R. (1986): Mercury content in mushroom species in the Cordova area. *Bull. Envir. Contam. Toxicol.*, 36: 662–667.

Received for publication May 10, 1999

Accepted for publication June 2, 1999

Souhrn

CIBULKA J., ČURDOVÁ E., MIHOLOVÁ D., STĚHULOVÁ I. (1999): **Ztráty rtuti z jedlých hub po jejich modelové tepelné úpravě.** *Czech J. Food Sci.*, 17: 238–240.

Naše orientační studie ztrát rtuti z matrice jedlých hub po jejich modelové tepelné úpravě prokázala, že v průměru 34.3 % přirozeně zabudované nebo experimentálně přidané rtuti se z jedlých hub odpařilo během 20 minut jejich modelového tepelného ošetření při teplotě 300 °C. Tepelná úprava jedlých hub, např. smažení na pánvi, může proto snížit zátěž lidského organismu rtutí. Experiment byl proveden s použitím homogenátu jedlých hub se známým přirozeným obsahem rtuti a se vzorky homogenátu s přidanými různými dávkami rtuti.

Klíčová slova: jedlé houby; kontaminace rtutí; tepelné ošetření; ztráta rtuti

Corresponding author:

Doc. Ing. JIŘÍ CIBULKA, DrSc., Česká zemědělská univerzita, Katedra veterinárních disciplín, 165 21 Praha 6-Suchbát, Česká republika, tel.: + 420 2 24 38 27 96, fax: + 420 2 20 92 03 15, e-mail: cibulka@af.czu.cz

KONFERENCE A SEMINÁŘE

20. Mezinárodní kongres chlazení

19.–24. září 1999 Sydney (Austrálie)

Na základě pozvání vlád Austrálie a Nového Zélandu byl ve dnech 19.–24. září 1999, ve spolupráci s Mezinárodním ústavem chlazení (International Institut of Refrigeration – dále jen IIR) uspořádán v Sydney 20. Mezinárodní kongres chlazení, jehož součástí bylo zasedání Generální konference členských států IIR a jeho řídicích orgánů. Kongres organizuje IIR jedenkrát za čtyři roky.

Kongresu se podle oficiálních údajů zúčastnilo 898 odborníků z 59 zemí světa. V rámci vědecko-technického programu bylo uspořádáno celkem 5 plenárních a 16 klíčových zasedání. Celkově bylo předneseno ve 103 odborných zasedáních více než 500 referátů. Hlavní témata kongresu, jehož motto znělo *Chlazení pro třetí tisíciletí*, se týkala pěti oblastí: Kryofyzika, kryotechnika a kryobiologie; Aplikovaná termodynamika a přenos tepla, vývoj nových chladiv, alternativní cykly, energetická účinnost; Zpracování, ošetřování, skladování a přeprava zkazitelných potravin; Chladírny, mrazírny a chlazená přeprava; Klimatizace, regulace vnitřního prostředí a pohoda prostředí.

Tato témata byla dále rozšířena o speciální semináře zaměřené na termodynamické vlastnosti chladiv, bezpečnost uhlovodíků, CO₂, transportní chlazení, HACCP, řízenou atmosféru, klimatizaci, skladování v chladu, systémy vzduch–voda. Současně byly pořádány i odborné kurzy na téma kryogenika, nová chladiva a oleje, sorpční chlazení a tepelná čerpadla, NH₃, matematické modelování procesů, energetická účinnost, PC nástroje pro chladicí řetězce, klimatizace–automatizace, kvalita vzduchu pro klimatizaci (AIQ).

Do technického programu kongresu bylo zahrnuto 23 exkurzí, na kterých se účastníci mohli seznámit s nejnovějšími chladicími stroji a zařízeními (podle kongresových témat) v Austrálii (Nový Jižní Wales).

Do vědecko-technického programu jednání jednotlivých zasedání kongresu byly přijaty tři příspěvky českých odborníků, které budou zahrnuty do sborníku referátů: Vacuum Cooling of Foods (M. Houška – Výzkumný ústav potravinářský Praha); Cryopreservation of Hematopoietic Progenitor Cells for Autologous and Allogeneic Transplantation (P. Měříčka – Fakultní nemocnice Hradec Králové); Conversion of the Turbocompressor Cooling Station with R 12 into the Station With Absorption Cooling (J. Pařízek – ČKD Praha DIZ, a. s.)

Francouzskými odborníky byly prezentovány dvě práce z oblasti chlazení potravin, na kterých se podílela H. Opatová z Vysoké školy chemicko-technologické v Praze.

Odborný program kongresu

Těžištěm odborných jednání byla jednotlivá zasedání a navazující diskuse. Pro přehlednost jsou poznatky získané v průběhu kongresu seřazeny podle jednotlivých vědecko-technických komisí IIR: A1 – Kryofyzika, kryoinženýrství; A2 – Zkapalňování a dělení plynů; B1 – Termodynamika a sdílení tepla; B2 – Chladicí zařízení; C1 – Lyofilizace, kryobiologie, lékařské aplikace; C2 – Technologie potravin; D1 – Chladírny a mrazírny; D2 – Chlazená přeprava; E1 – Klimatizace; E2 – Tepelná čerpadla a rekuperace energie.

Z bohatého programu kongresu se zmíníme o tématice mající vztah k potravinám a potravinářskému výzkumu.

Program komise C2 – Technologie potravin

V rámci plenárního zasedání přednesl nový ředitel IIR dr. Billiard přednášku na téma *Nové poznatky z oblasti chladicího řetězce – celosvětový pohled*. (Plný text přednášky je k dispozici pod č. 726). Autor porovnává trendy růstu celosvětové populace a zdroje potravin. V sekci Chlazení potravin dr. Haugland z Norska ukázal výhodnost zpracování ryb v předmraženém stavu (2 dny v mořské vodě o teplotě $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$), v němž jsou dobře zpracovatelné, nemají velké ztráty a při zpracování v místnostech s teplotou $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ nenastane vyšší teplotní nárůst než $0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (díky skupenskému teplu tání). Dr. Lukasová prezentovala výsledky modelování zmrazování ponořováním s uvažováním tvorby zmrazené vrstvičky, která špatně vede teplo a brání přestupu hmoty. Zaujala přednáška Dr. Suna z Irsku o přednostech vakuového chlazení velkých kusů vařeného masa (šunka); srovnání chlazení vzduchem, vodou a pouze v chladničce. Při vakuovém chlazení jsou sice vyšší ztráty, ale při následném skladování dochází k menšímu pomnožení mikrobů (referáty č. 168, 440). Proti měřením ve VÚPP Praha byl zjištěn teplotní profil s anomálií (střed jde rychleji než některá část blíže k okraji).

V sekci Chlazení potravin zaujaly práce o vývoji čidla na stanovení lokálního součinitele přestupu tepla do modelu těla hovězího masa, o vlivu mezer na dobu chlazení balených potravin, o využití vodní mlhy (ultrazvukový generátor) na chlazení lože kulových částic a zejména o vývoji listerii u balených a nebalených drůbežích těl za 24 a 48 hodin (brány povrchové stěny, kontaminace při nedostatečném sprchování na porážce, zdroj asi voda, rukavice obsluhy; referát č. 718). Kromě této práce zaujala přehledová studie dr. Baila z Francie o možnostech tlakového zmrazování potravin (referát č. 036).

Z této sekce ještě upozorňuji na práci dr. Juhla z výzkumné organizace Meat Research Institute (družstva Farmáři Dánska), který předvedl nový způsob chlazení prasat ve vakuovém obalu (pytle lze použít vícekrát) ponořováním do různě vychlazených solných roztoků ($-2\text{ }^{\circ}\text{C}$, potom $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$). Při chlazení dochází k minimalizaci ztrát, zlepšení vaznosti vody v mase a snížení počtu mikroorganismů na povrchu masa. Po chlazení se těla vyjmají a umísťují do normálního skladu. Nádoby s roztokem soli jsou míchané. Roztok soli může preventivně obsahovat i konzervační látku, neboť nepřichází do styku s masem. Celý systém by se měl snížením ztrát zaplatit za dva roky.

Dále zaujala práce dr. Grudy o možnosti jak zvýšit kapacitu stávajících fluidních zmrazovacích tunelů předfazením dusíkového mrazení na vstupu (doba 3 sec stačí ke zmrazení povrchu, částice se nelepí). Výkon lze zvýšit až o 100 %. Druhý způsob může být proveden tak, že se provádí sprchování na konci tunelu, nebo se zařadí ponořování na jeho konci (referát k dispozici).

V sekci Modelování a vlastností potravin zaujala práce dr. Lowatta (MIRINZ – Nový Zéland) o matematickém aparátu pro navrhování zmrazovacího zařízení (modifikovaná Planckova rovnice). Prof. Mascheroni přednesl příspěvek na téma využití přechodových funkcí teploty zboží v daném zařízení jako odezvy na skokovou změnu teploty prostředí (nelze využít při změně fáze). Pak je možné pro obecný průběh teploty prostředí numericky určit průběh teploty zboží a integrovat např. kinetické rovnice pro kažení, změny barvy, doby skladovatelnosti atd. V další části sekce přednesl dr. Tanner zajímavou práci, ve které pomocí numerické analýzy navrhoval optimální způsob balení jablek. Dr. Beaufort přednesla příspěvek o srovnání skutečného růstu salmonely a stafylokoků aurea v reálných potravinách s předpovědí pomocí Food Micro Model. V případě salmonely a šlehačky s cukrem (creme chantilly) dochází k rychlejšímu růstu než lze předpovědět podle Food Micro Modelu.

V dalším jednání nejvíce zaujala plenární přednáška a následující workshop na téma Možnosti predikce doby skladování minimálně ošetřených chlazených potravin, kterou přednesl prof. Mc Kenna z Irska. Z přednášky a následující diskuse vyplynulo, že modelování tepelných procesů metodami konečných prvků je již poměrně zvládnuto, i když stále chybí přesná vstupní data fyzikálních vlastností a zejména součinitele přestupu tepla (citlivostní analýzou bylo zjištěno, že má největší vliv na přesnost predikce zejména teplot povrchu). Rovněž predikce růstu mikroorganismů značně pokročila, i když zde existují rozsáhlé oblasti neznámých teplot, kdy mikroorganismy ani nerostou, ani nehybou. Nejsou vůbec zvládnuty modely, které by zahrmyly vlivy kombinací účinků různých zákroků (pH, mírná dávka konzervantu, teplota). Při predikci doby skladovatelnosti však mohou být určujícím parametrem „kažení“ i textura a barva. Pro tyto parametry (důležité pro obchod) zcela chybí kinetická data.

V rámci jednání sekce o mikrobiologii zaujal příspěvek dr. Morové ze Španělska o přežívání *E. coli* v jogurtech a dále přednáška dr. Rybkové z Austrálie o možnostech biologických způsobů prodloužení trvanlivosti hotových jídel. Z dalších témat komise vyplynula snaha o matematické modelování procesů a o jejich zlepšování ve smyslu získávání vyšší kvality výrobků a snižování nákladů, resp. spotřeby energie. Rovněž dochází k rozmachu prediktivních databází zaměřených na předpovědi doby skladovatelnosti a růstu mikroorganismů.

Program komise D1 – Chladírny a mrazírny

V sekci Zmrazování potravin prof. Reida z University of California-Davis hovořil o možnosti předpovídat dobu skladovatelnosti zmrazených potravin ze dvou změřených bodů (např. z hodnot $-6\text{ a }-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ předpověděl chování při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$), což lze provést u potravin bez tuků (plný text přednášky k dispozici).

V další části programu zaujala zejména přednáška prof. Grudy z Polska o stanovení velikosti součinitele přestupu tepla při fluidním zmrazování ovoce. Velmi zajímavou práci představila dr. Mertsová z Nového Zélandu, která se zabývala srovnáním rozmrazování bloků masa ve vodní lázni a sprchováním vodou, rozmrazováním mezi dvěma deskami a vzduchem. Při vhodném uspořádání se zdá být nejvýhodnější (kromě dalších nákladnějších způsobů, jako za vakua nebo mikrovlákného) rozmrazování ve vodní lázni.

V rámci této sekce se konal workshop na téma Počítačové prostředky pro simulaci chlazeného řetězce, v rámci něhož byl prezentován program Food Product Modeller, vyvinutý dr. Phanem a Lowattem z MIRINZ Nový Zéland (funkční demo verze k dispozici). V rámci workshopu byly diskutovány tyto okruhy: uživatelské hledisko, hledisko tvůrce programu, vztahy mezi uživatelem a tvůrcem. Bylo konstatováno, že uživateli prediktivního software jsou především konzultační firmy a konstruktéři strojů a zařízení. Ojedinele se software uplatňuje pro orientaci vedoucích provozů. Dr. Lowatt a dr. Van Sluis informovali o prvních aplikacích on-line. Dr. Lowatt aplikoval výpočet zmrazování na vsádkové zařízení. Operátor si volí dobu zmrazování a počítač optimalizuje rychlost proudění a teplotu vzduchu

v rámci „rozumných“ mezi tak, aby nedocházelo k velkým ztrátám. Podobnou aplikaci programu BERTIX použil dr. Sluis pro řízení chlazení půlek hovězího masa. Půlky jsou zváženy a je určen průběh teploty chlazení včetně určení množství odvedeného tepla. Chladicí zařízení je pak řízeno podle teploty v chladárně (mění se výparná teplota, čímž se mění rozdíl teplot mezi zbožím a vzduchem a reguluje se množství odebraného tepla podle předchozího výpočtu). Výhodou je snížení ztrát při chlazení a zkrácení jeho doby.

V další části workshopu bylo konstatováno, že bude užitečné v rámci webových stránek IIR připravit seznam dosud existujícího software k modelování chladicího řetězce. Na požadavek vývoje obecně platného software z pléna reagovali přítomní autoři programů poukazem na již existující COSMOS apod. Vstupní data fyzikálních vlastností a součinitelů přestupu tepla jsou nepřesná. Ing. Houška prezentoval výsledky PECO projektu a současnou snahu o sběr dat v rámci projektu FLAIR. Cesta naznačená FRPERC Bristol – vývoj jednoúčelových programů COOLVAN, BEEFCOOL – je cestou nízkých nákladů na kopii, funkce na PC a jednoduché obsluhy.

Komise D2 – Chlazená přeprava

Problematicke chlazené dopravy byla věnována úvodní přednáška A. C. Stery, čtyři zasedání sekce, na kterých bylo předneseno celkem 22 referátů, jeden půldenní kurz a exkurze.

Rozsah chlazené dopravy ve světě lze podle různých vystoupení na kongresu odhadovat na 1 až 1,5 mil. silničních vozidel, z čehož je 30 % trailerů, 40 % trucků s nezávislým pohonem chladicí jednotky a zbytek jsou menší vozidla s chladicími jednotkami s pohonem od motoru vozidla. Námořní chlazená přeprava je odhadována na roční objem 50 mil. tun s ročním nárůstem 5 % (hlavně banány, maso a ryby). K výraznému růstu dochází v posledních pěti letech u letecké chlazené přepravy (maso, mořské plody, ovoce, zelenina, řezané květiny), u níž bylo při meziročním nárůstu 10–12 % v roce 1998 dosaženo 4,4 mil. tun.

D. Crombie (Thermo King, USA) referoval o novém řešení kontejnerové chladicí jednotky, která v důsledku použití scroll kompresoru s novým systémem regulace výkonu a vylepšení ventilátorů výparníku i kondenzátoru dosahuje snížení spotřeby energie o 50 % proti standardnímu provedení. J. Paul (INTEGRAL, NSR) referoval o použití tzv. binárního ledu jako zdroje chladu pro transportní chlazení. Tento binární led (směs malých krystalů ledu a kapaliny) vyráběný ve stacionárním chladicím zařízení se naplní do mezistěny speciálního kontejneru, ve kterém se pak udržuje požadovaná teplota.

Několik referátů se zabývalo použitím řízené atmosféry a to zejména pro dálkovou přepravu kontejnerů po moři. A. R. Lawton (Cambridge Refrigeration Technology, UK) popisoval systém zlepšující distribuci vzduchu a následně zlepšení rovnoměrnosti teploty v kontejneru. G. Panozzo (ITEF CNR Padova, Itálie) se zabýval oscilacemi teploty na výstupu z výparníku a jejich vlivem na nestabilitu termostatického ventilu. V dalším příspěvku se stejný autor zabýval parametry, které mají vliv na stárnutí (aging) tepelné izolace skříní chladírenských přepravníků.

Zhodnocení kongresu

Mezinárodní ústav chlazení (IIR) je mezinárodní vládní organizace se sídlem v Paříži a sdružuje 61 členských zemí z pěti kontinentů, včetně České republiky. Základním cílem IIR je napomáhat výzkumu a vývoji chladicí techniky formou rozšiřování a výměny informací o nejnovějším stavu vědy a techniky v oblasti výroby a použití chladu. Vznik IIR se datuje od roku 1908. IIR je fórum pro výměnu vědeckého a průmyslového know-how, které podporuje ve výzkumných ústavech, výrobních společnostech, vysokých školách a dalších organizacích vývoj a rozmach znalostí chladicí technologie a její využití. Účast a odborná úroveň kongresu potvrzuje, že IIR zůstává v současné době významnou institucí pro styk a výměnu informací o vývoji chladicí techniky. Není pochyb o tom, že technologie chlazení se zlepšuje ve prospěch lidstva a činí tak zvýšenou měrou různými formami (zlepšené dodávání potravin a jejich zdravotní nezávadnost, zdraví a lékařství, pohodlí chlazení a vytápění, energeticky účinné technologie chlazení, ekologická chladiva apod.). IIR svým strategickým plánem na období 2000–2003 dává jasně najevo, že podporuje tento směr vývoje a usiluje na další rozvoj vědy a jejího průmyslového využití. Rozvíjející se existence IIR je důkazem toho, že chlazení je klíčovou technologií, která uspokojuje požadavek rostoucí světové populace.

Aktivní účast českých odborníků na jednání kongresu umožnila seznámit se bezprostředně s nejnovějšími výsledky vědy a techniky v oblasti chlazení, navázat kontakt s předními světovými odborníky a konfrontovat stav chlazení v ČR se světem. Jejich přednášky přednesené na kongresu, skutečnost, že v ČR bylo uspořádáno v minulém funkčním období sedm mezinárodních konferencí z oblasti chladicí techniky, a obsazení postů ve vrcholných orgánech IIR odborníky z ČR svědčí o velmi dobré úrovni tohoto oboru v ČR.

Na základě Informace o průběhu a výsledcích 20. Mezinárodního kongresu chlazení, kterou vypracovali členové delegace České republiky národní komitétu pro spolupráci s Mezinárodním ústavem chlazení, zpracoval Ing. Milan Houška, CSC.

REJSTŘÍK VĚCNÝ

Analytické metody	
– diferenční pulzní anodická rozpouštěcí voltametrie, zinek ve víně	73
– ELISA, α -laktalbumin, β -laktoglobulin, syrovátkové bílkoviny	5
– GC-MS, složky koření	201
– HPLC, maso, niacin, kyselina nikotinová	166
– hydrofobní chromatografie, bílkoviny z ryb, peptidy	161
– kapilární elektroforéza, daidzein, genistein	61
– nepřímá vodivostní metoda, <i>Leuconostoc</i> , analýza CO ₂	143
Analýza texturního profilu	
– vařené brambory, textura, modul pružnosti	136
Antimikrobiální účinky	
– kyselina laurová, monolaurylglycerol	49
Antimutagenní aktivita	
– květáková šťáva, ošetření vysokým tlakem, pasterace	149
Antioxidanty	
– badyán, muškátový květ, saturejka, olej	95
– Diludin, lipidy, synergismus	133
– řepkový olej, slunečnicový olej, rozmarýnový extrakt, šalvějový extrakt	121
– N-(2-pyrón-3-yl)- α -L-aspartyl-L-fenylalanin methylester, kyselina askorbová, podzemnicový a řepkový olej, Aspartam	41
– stabilita tuků a olejů, přístroj Oxipres	68
Bakteriociny	
– enterocin NA, produkce, izolace, fermentované potraviny ..	1
Biogenní aminy	
– kadaverin, putrescin, produkce mikroorganismy	15
Enzymová hydrolyzá	
– rybí odpad, inhibice ACE, peptidy	161
Enzymová imunoanalýza	
– stanovení α -laktalbuminu, β -lactoglobulinu, kravské mléko, ELISA	5
Falšování potravin	
– rostlinné oleje, kyselina eruková, brassicasterol	182
Fermentované potraviny	
– bakteriociny, enterocin NA, izolace	1
Fortifikace potravin	
– kyselina listová, fosfáty, deficiencie	35
Fytoestrogeny	
– sójové potraviny, stanovení, kapilární elektroforéza, daidzein, genistein	61
HACCP	
– rostlinné jedlé oleje, kompatibilita HACCP/ISO	113
Houby	
– kontaminace rtuť, tepelné ošetření, ztráta rtuťi	238
Chemiluminiscence	
– rostliny rodu <i>Echinacea</i>	99
Jogurt	
– mléko kravské, ovčí, kozí, senzorké hodnocení	31
Kapilární elektroforéza	
– fytoestrogeny, sójové potraviny, daidzein, genistein	61
Kyselina laurová	
– antimikrobiální účinek, monolaurylglycerol	49
Kyselina listová	
– fortifikace potravin pro ženy a děti, fosfáty, deficiencie	35
Mikroskopické vyšetřování masa	
– histologie, falšování potravin, masné výrobky	153
Mléko	
– kravské, ovčí, kozí, jogurty	31
– psychotrofní mikroorganismy, mezofilní mikroorganismy, korelační koeficient	216
Modelové tekuté potraviny	
– deriváty celulózy, elasticita, senzorká viskozita, korelace	23
Mražené potraviny	
– bod tuhnutí, termofyzikální vlastnosti, přestup teploty	211
Niacin	
– maso a vnitřnosti, stanovení HPLC	166
Nutriční hodnota	
– pečivo, saláty, základní složení, vitaminy, minerální látky	176
Patulin	
– jablečný koncentrát, degradace, vysokotlaké a tepelné ošetření, vliv skladování	127
Preference potravin	
– stupeň obliby, četnost konzumu	89
Řepka	
– fosfolipasa D, mikrovlnný ohřev, γ -radiace	77
Senzorké hodnocení	
– jogurty, mléko kravské, ovčí, kozí	31
– jablečná šťáva, skladování, ošetření vysokým tlakem	196
– senzorká viskozita, textura, mléčné nápoje	81
Sójové potraviny	
– fytoestrogeny, daidzein, genistein	61
Sušený fík	
– roztoč, mortalita, teplota, vysoký tlak, LD50	235
Sýry	
– Gouda, mezofilní kultury, aktivita kyselých fosfatasy	55
– Gouda, zrání, proteolýza, volné aminokyseliny, peptidy, kyselá fosfatasa	223
Teplotní historie	
– chlazené kuře, analýza nebezpečí, potenciální růst mikroorganismů	188
Ureasa sóji	
– purifikace, imobilizace, afinitní chromatografie	171
Vakuové chlazení	
– kusové potraviny, přenos hmoty	103
– součinitel přenosu hmoty, kapaliny	205
Víno	
– zinek, stanovení, diferenční pulzní anodická voltametrie ...	73
Viskozita	
– senzorká, smyková, stříhová, deriváty celulosy, korelace	23
– senzorká, textura, mléčné nápoje	81
Zinek	
– víno, stanovení, diferenční pulzní anodická voltametrie	73

SUBJEKT INDEX

Adulteration	
– plant oils, erucic acid, brassicasterol	182
– meat and meat products, microscopic examination, histology	153
Analytical methods	
– capillary electrophoresis, daidzein, genistein	61
– differential pulse anodic stripping voltametry, zinc, wine ..	73
– ELISA, α -lactalbumin, β -lactoglobulin, whey proteins	5
– HPLC, meat, niacin, nicotinic acid	166
– GC-MS, spice composition	201
– hydrophobic chromatography, fish proteins peptides	161
– indirect conductometry, CO ₂ analysis, <i>Leuconostoc</i>	143
– Oxipres, oxidative stability, fats, oils	68
Antimicrobial effects	
lauric acid, monolauroylglycerol	49
Antimutagenic activity	
– cauliflower juice, high pressure processing, pasteurization	149
Antioxidants	
– Diludin, lipids, synergismus	133
– geranium, savory, star anise, oil	95
– N-(2-pyron-3-yl)- α -L-aspartyl-L-phenylalanine methyl ester, ascorbic acid, peanut and rapeseed oil, aspartame ..	41
– rapeseed oil, sunflower oil, rosemary extracts, sage extracts	121
– stability of fats and oils, Oxipres apparatus	68
Bacteriocin	
– enterocin NA, production, isolation, fermented foods	1
Biogenic amines	
– cadaverine, putrescine, production by microorganisms	15
Capillary electrophoresis	
– phytoestrogens, soy foods, daidzein, genistein	61
Cheese	
– Gouda, mesophilic starters, acid phosphatase activity	55
– Gouda, ripening, proteolysis, free amino acids, peptides, acid phosphatase	217
Chemiluminescence reaction	
– plants family <i>Echinacea</i>	99
Dried fig	
– <i>Carpoglyphus lactis</i> , mortality, temperature, high pressure, LD ₅₀	235
Edible mushrooms	
– mercury contamination, thermal treatment, mercury loss ..	238
ELISA	
– determination of α -lactalbumin and β -lactoglobulin, whey proteins	5
Enzymatic hydrolysis	
– fish processing wastes, ACE inhibition, peptides	161
Enzyme immunoassay	
– determination of α -lactalbumin and β -lactoglobulin, whey proteins, ELISA	5
Fermented foods	
– bacteriocines, enterocin NA, isolation	1
Folic acid	
– fortification of food for women and children, dietary deficiency	35
Food	
– fortification, folic acid, deficiency	35
– preference, degree of liking, preferred food frequency	89
– refrigeration, freezing point, thermal physical properties, heat transfer	211
HACCP	
– edible plant oils, production, compatibility of HACCP/ISO	113
Lauric acid	
– monolauroylglycerol, antimicrobial effect	49
Meat	
– microscopy examination, histology, food adulteration	153
– HPLC, niacin, nicotinic acid	166
Milk	
– cow, sheep, goats, yoghurts	31
– psychrotrophic microorganisms, mesophilic bacteria, correlation coefficient	216
Model liquid foods	
– sensory viscosity	23
Niacin	
– determination HPLC, meat, offals	166
Nutrient and energy value	
– fast food, basic composition, vitamins, minerals	176
Patulin	
– apple concentrate, degradation, high pressure treatment, heat treatment, storage effect	127
Phytoestrogens	
– soy foods, determination, capillary electrophoresis, daidzein, genistein	61
Rape seed	
– phospholipase D, microwave treatment, γ -irradiation	77
Sensory evaluation	
– milk beverages, sensory viscosity, texture	81
– yoghurts, cow, sheep, goat milk	31
– apple juice, storage, high pressure	196
Soy foods	
– phytoestrogens, daidzein, genistein	61
Soybean urease	
– purification, immobilization, affinity chromatography ..	171
Texture profile analysis	
– cooked potatoes, texture, Young's modulus	136
Thermal history	
– chilled chicken, hazard analysis, potential growth of microorganisms	188
Vacuum cooling	
– liquids, mass transfer coefficient	204
– solid foods, mass transfer	103
Viscosity	
– model liquid foods, derivatives of cellulose, shear viscosity, elasticity, sensory viscosity, correlation	23
Wine	
– zinc, determination, differential pulse anodic stripping voltametry	73
Zinc	
– wine, determination, differential pulse anodic stripping voltametry	73

Name Index

Rejstřík jmenný

BABICZ-ZIELIŃSKA E.	
Relationships between different food preference measures Vztahy mezi různými způsoby zjišťování preferencí potravin	89
BARTOŠ P., HOUŠKA M., HOFFMAN P., KÝHOS K., ŠESTÁK J.	
Mass transfer coefficient for vacuum cooling of liquid foods Součinitel přenosu hmoty při vakuovém chlazení kapalin	204
BLAHOVEC J., ESMIR A. A. S., VACEK J.	
Texture profile analysis applied to cooked potato Analýza texturního profilu vařených brambor	136
BOHAČENKO I., ERBAN V., SCHWARZ W.	
Zkušenosti s propojením systému kritických bodů v technologii výroby rostlinných olejů a normy ISO 9002 získané v závodě SETUZA, a. s. Experiences with interconnection of the Critical Points System (HACCP) in production technology of plant addible oils and ISO 9002 in company SETUZA Ltd.	113
BOHAČENKO I., KOPICOVÁ Z.	
Detection of sunflower and soybean oil adulterated with rapeseed oil Průkaz falšování slunečnicového a sójového oleje olejem řepkovým	182
BRŮNA D., VOLDŘICH M., MAREK M., KAMARÁD J.	
Effect of processing and storage conditions on patulin content in apple juice concentrate Vliv podmínek zpracování a skladování na obsah patulinu v jablečném koncentrátu	127
DOSTÁL M., KÝHOS K., HOUŠKA M., GRÉE R.	
Vakuové chlazení kusovitých potravin Vacuum cooling of solid foods	103
DOSTÁLEK P., KOPLÍK R., PATZAK M.	
The determination of zinc content in wines by differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) Stanovení obsahu zinku ve víně diferenciální pulzní anodickou voltametrií (DPASV)	73
DRÁB V., KVASNIČKOVÁ E., ČERNÝ V.	
Tvorba CO ₂ u bakterií rodu <i>Leuconostoc</i> stanovená pomocí nepřímé vodivostní metody Use of indirect conductometry for measuring CO ₂ production by <i>Leuconostoc</i>	143
DRÁB V., VEJDOVÁ M., SAJDOK J., HÝNEK R.	
Průběh proteolýzy bílkovin a změny aktivity kyselých fosfatasy v sýrech holandského typu vyráběných s různými druhy smetanových kultur Proteolysis and acid phosphatase activity in cheeses of Gouda type made with different starters	223
FIKIIN A. G., FIKIIN K. A.	
Initial freezing temperature of various foods with special reference to fruit juices and concentrates and to grapes Počáteční bod tuhnutí různých potravin se zvláštním zaměřením na ovocné džusy a koncentráty a hroznovou šťávu	212
GREIF G., GREIFOVÁ M., DVORAN J., KAROVIČOVÁ J., BUCHTOVÁ V.	
Štúdium rastu a produkcie biogénnych aminov niektorými mikroorganizmami za modelových podmienok Study of the growth and production of biogenic amines by some microorganisms in model conditions	15
HOLASOVÁ M., MAŠKOVÁ E.	
Niacin determination in meat and offals by HPLC and its comparison with microbiological assay Stanovení niacinu v mase a vnitřnostech metodou HPLC a srovnání s mikrobiologickým stanovením	166
HOUSKA M., LANDFELD A., STROHALM J., KÝHOS K., NESVADBA P.	
Teplotní historie chlazeného kuřete v průběhu zpracování a dopravy včetně analýzy nebezpečí růstu vybraných mikroorganismů Thermal history of chicken during processing and transport for a FMM-assisted analysis of microbial growth risk	188

HYNEK R., DRÁB V., SAJDOK J.	
Activity of acid phosphatase in Gouda cheese made with different mesophilic starters	
Aktivita kyselých fosfatasy v sýrech typu Gouda vyrobených různými mezofilními kulturami	55
KARASOVÁ L., RAUCH P., FUKAL L.	
Sestavení kompetitivní enzymové imunoanalýzy pro stanovení α -laktalbuminu a β -laktoglobulinů kravského mléka	
Construction of competitive enzyme immunoassay for determination of α -lactalbumin and β -lactoglobulins of cow's milk	5
KMÍNKOVÁ M., KUČERA J.	
Purification and immobilization of soybean (<i>Glycine max</i>) urease	
Purifikace a imobilizace ureasy sóji (<i>Glycine max</i>)	171
KOGA H., TOKUYAMA T., SAKURAI H., RĚBLOVÁ Z., TROJÁKOVÁ L., NGUYEN H. T. T., POKORNÝ J.	
Antioxidant activity of N-(2-pyrone-3-yl)- α -L-aspartyl-L-phenylalanine methyl ester	
Antioxidační účinnost N-(2-pyrone-3-yl)- α -L-aspartyl-L-fenylalaninmethylesteru	41
MAŠKOVÁ E., FIEDLEROVÁ V., HOLASOVÁ M., RYSOVÁ J.	
Energy and nutrient value of selected delicatessen salads	
Nutriční hodnota vybraných lahůdkových salátů	176
MINH NHAT D., TAKÁCSOVÁ M., JAKUBÍK T., DAC VINH N.	
The composition of essential oil from laurel leaf	
Složenie silíc bobkového listu	201
NGUYEN H. T. T., POKORNÝ J., KORCZAK J.	
Antioxidant activities of rosemary and sage extracts in rapeseed and sunflower oils	
Antioxidační účinnost extraktů z rozmarýny a šalvěže v řepkovém a slunečnicovém oleji	121
NOVOTNÁ P., HOUŠKA M., SOPR V., VALENTOVÁ H., ŠTERN P.	
Vliv smykové viskozity a elasticity na senzoricou viskozitu modelových kapalných potravin	
The effect of shear viscosity and elasticity on sensory viscosity of model liquid foods	23
NOVOTNÁ Z., VALENTOVÁ O., SVOBODA Z., SCHWARZ W., KÁŠ J.	
Effects of microwave and γ -irradiation treatment on the rape seed	
Ošetření semen řepky γ -radiací a mikrovlnným ohřevem	77
NOVOTNÁ P., VALENTOVÁ H., STROHALM J., KÝHOS K., LANDFELD A., HOUŠKA M.	
Senzorické hodnocení jablečné šťávy ošetřené vysokým tlakem v průběhu skladování	
Senzory evaluation of high-pressure treated apple juice during its storage	196
OLASUPO N. A., SCHILLINGER U., FRANZ C., HOLZAPFEL W. H.	
Enterocin NA: A bacteriocin produced by <i>Enterococcus faecalis</i> BFE 1057 isolated from a nigerian fermented dairy product	
Enterocin NA: bakteriocin produkovaný <i>Enterococcus faecalis</i> BFE 1057 izolovaným z nigerijského kvašeného mléčného produktu	1
PAŽÁKOVÁ J., BURDOVÁ O., TUREK P., LACIAKOVÁ A.	
Senzorické hodnotenie jogurtu vyrobených z kravského, ovčieho a kozieho mlieka	
Sensorial evaluation of yoghurt produced from cow, sheep and goat milk	31
PLOCKOVÁ M., FILIP V., KUKAČKOVÁ O., ŠMIDRKAL J., ŘIHÁKOVÁ Z.	
Antimicrobial effect of monolaurylglycerol and lauric acid in model emulsion system	
Antimikrobiální vliv monolaurylglycerolu a kyseliny laurové v modelovém emulzním systému	49
PROŠKOVÁ A., KUČERA J., VÁCHA F.	
Enzymatic hydrolysis of the protein wastes from carp (<i>Cyprinus carpio</i>) processing and the separation of hydrophobic peptides	
Enzymová hydrolyza bílkovinných odpadů ze zpracování kapra (<i>Cyprinus carpio</i>)	161
SEDMÍKOVÁ M., TUREK B., BÁRTA I., STROHALM J., ŠMERÁK P., HOUŠKA M., MÜLLEROVÁ J.	
Hodnocení antimutagenní aktivity tlakově ošetřené (paskalizované) a tepelně ošetřené (pasterované) květákové šťávy	
Evaluation of antimutagenic activity of pressurized (pascalized) and pasteurized cauliflower juice	149

ŠESTÁKOVÁ H., TUREK B. Ovlivnění chemiluminiscenční reakce přípravkem z rostlin rodu <i>Echinacea</i> Influencing the chemiluminescence reaction by preparation of the plant family <i>Echinacea</i>	99
TAKÁČSOVÁ M., DAC VINH N., MINH NHAT D. Antioxidačný účinok muškátového kvetu, saturejky a badiánu Antioxidative effects of geranium, savory and star anise	95
TIRZITIS G., KIRULE I. Antioxidant activity and synergism of 2,6-dimethyl-3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydropyridine (Diludin) with BHT and BHA Antioxidační aktivita a synergismus 2,5-dimethyl-3,5-diethoxykarbonyl-1,4-dihydropyridinu (Diludinu) s BHT a BHA	133
TROJÁKOVÁ L., RÉBLOVÁ Z., POKORNÝ J. Determination of the oxidative stability of fats and oils using the Oxipres apparatus Stanovení oxidační stability tuků a olejů přístrojem Oxipres	68
VÄNTTINEN K., MORAVCOVÁ J. Phytoestrogens in soy foods: determination of daidzein and genistein by capillary electrophoresis Fytoestrogeny v sójových potravinách: stanovení daidzeinu a genisteinu kapilární elektroforézou	61
VALENTOVÁ H., PANOVSÁ Z., POKORNÝ J., HOUŠKA M.: Sensory viscosity evaluation of non-Newtonian beverages Senzorické hodnocení viskozity newtonských kapalných potravin	81
VYLETĚLOVÁ M., BENDA P., HANUŠ O., KOPUNECZ P. Stanovení celkového počtu psychrotrofních bakterií v bazénových vzorcích mléka a jejich vztah k celkovému počtu mikroorganismů Determination of total counts of psychrotrophic bacteria in pool milk samples and their relation to total counts of microorganisms	216
ŽDÁRKOVÁ E., STROHALM J., HOUŠKA M. Vliv vysokého tlaku na <i>Carpoglyphus lactis</i> L. (Acaridae: Carpo-glyphidae) Effect of high pressure on <i>Carpoglyphus lactis</i> L. (Acaridae: Carpo-glyphidae)	235
SHORT COMMUNICATION – KRÁTKÁ SDĚLENÍ	
CIBULKA J., ČURDOVÁ E., MIHOLOVÁ D., STĚHULOVÁ I. Mercury loss from edible mushrooms after their model thermal treatment Ztráty rtuti z jedlých hub po jejich modelové tepelné úpravě	238
REVIEW	
UHEROVÁ R., HORKULIČOVÁ M., MIKUŠOVÁ M. Význam fortifikácie potravín kyselinou listovou vo výžive žien a detí Relevance of folic acid fortification of foods in the nutrition of women and children	35
TREMLOVÁ B. Historie a současnost mikroskopického vyšetřování masa a masných výrobků History and the present of microscopic examination of meat and meat products	153
KONFERENCE A SEMINÁŘE – CONFERENCES AND SEMINARS	
HOLASOVÁ M., FIEDLEROVÁ V. XXX. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin XXX th Symposium New trends of production and evaluation of foods	199
HOUŠKA M. 20. Mezinárodní kongres chlazení 19.–24. září 1999 Sydney (Austrálie) 20 th International Kongres of Refrigeration 19.–24. September 1999 Sydney (Australia)	241

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

The responsibility for the contents of a manuscript rests with the authors. The Editorial Board will decide on publication, after considering the manuscripts scientific importance, quality, and the comments of the referees.

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, Instruction, Materials and Methods, Results, Discussion, References, Contact address, 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.

The **Abstract** should state in short and concise form what was done and how, and should contain basic numerical and statistical data from the results.

Key words 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.

Contact address which also should include the telephone, fax and e-mail numbers of the corresponding author.

Tables and Figures shall be enclosed separately. Tables and Figures are numbered 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: Twenty (20) 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 musí být zaslán vytištěný na papíru formátu A4. K rukopisu je vhodné přiložit disketu s textem práce, popř. grafickou dokumentaci pořízenou na PC (uvést použitý program).

Vědecké práce musí mít toto členění: titulní strana, abstrakt a klíčová slova, úvod, materiál a metody, výsledky, diskuse, literatura, kontaktní adresu, tabulky a obrázky včetně popisů.

Titulní strana musí obsahovat název práce, plné jméno autorů, název a adresu instituce, kde byla práce dělána.

Souhrn musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, má obsahovat základní číselné údaje včetně statistických hodnot.

Klíčová slova (key words, index terms) se připojují po vynechání řádku pod souhrn. Řadí se směrem od obecných výrazů ke speciálním; začínají malým písmenem a oddělují se středníkem.

Úvod (bez nadpisu) by měl obsahovat krátký přehled důležité literatury vztahující se k tématu a cíl práce.

Materiál a metody: Model pokusu musí být popsán podrobně a výstižně. Popis metod by měl umožnit, aby kdokoli z odborníků mohl práci opakovat. Zkratky jsou používány jen pokud je to nutné; první použití zkratky musí být uvedeno úplným popisem nebo vysvětlením. Používání měrových jednotek musí odpovídat soustavě měrových jednotek SI.

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

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

Poděkování se uvádí před přehled použité literatury.

Literatura: Odkazy na literaturu v textu se provádějí uvedením jména autora a roku vydání publikace. Má-li práce tři a více autorů v textu se 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, zkratka jména, rok vydání (v závorce), plný název práce, úřední zkratka časopisu, ročník, první-poslední stránka; u knih je uvedeno místo vydání a vydavatel.

Kontaktní adresa obsahuje také čísla telefonu, faxu a e-mail autora pověřeného korespondencí.

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

Separáty: Autor obdrží zdarma 20 separátních výtisků práce.

Contents

Obsah

<p>► The composition of essential oil from laurel leaf</p>	<p>Složenie silíc bobkového listu</p>	<p>MINH NHAT D. TAKÁČSOVÁ M. JAKUBÍK T., DAC VINH N.</p>	<p>241</p>
<p>► Mass transfer coefficient for vacuum cooling of liquid foods</p>	<p>Součinitel přenosu hmoty při vakuovém chlazení kapalin</p>	<p>BARTOŠ P., HOUŠKA M. HOFFMAN P., KÝHOS K. ŠESTÁK J.</p>	<p>204</p>
<p>► Initial freezing temperature of various foods with special reference to fruit juices and concentrates and to grapes</p>	<p>Počáteční bod tuhnutí různých potravin se zvláštním zaměřením na ovocné džusy a koncentráty a hroznovou šťávu</p>	<p>FIKIIN A. G., FIKIIN K. A.</p>	<p>212</p>
<p>Determination of total counts of psychrotrophic bacteria in pool milk samples and their relation to total counts of microorganisms</p>	<p>► Stanovení celkového počtu psychrotrofních bakterií v bazénových vzorcích mléka a jejich vztah k celkovému počtu mikroorganismů</p>	<p>VYLETĚLOVÁ M. BENDA P., HANUŠ O. KOPUNECZ P.</p>	<p>216</p>
<p>Proteolysis and acid phosphatase activity in cheeses of Gouda type made with different starters</p>	<p>► Průběh proteolýzy bílkovin a změny aktivity kyselých fosfatasy v sýrech holandského typu vyráběných s různými druhy smetanových kultur</p>	<p>DRÁB V., VEJDOVÁ M. SAJDOK J., HYNEK R.</p>	<p>223</p>
<p>Effect of high pressure on <i>Carpoglyphus lactis</i> L. (Acaridae: Carpoqlyphidae)</p>	<p>► Vliv vysokého tlaku na <i>Carpoglyphus lactis</i> L. (Acaridae: Carpoqlyphidae)</p>	<p>ŽĎÁRKOVÁ E. STROHALM J., HOUŠKA M.</p>	<p>235</p>
SHORT COMMUNICATION		KRÁTKÁ SDĚLENÍ	
<p>► Mercury loss from edible mushrooms after their model thermal treatment</p>	<p>Ztráty rtuti z jedlých hub po jejich modelové tepelné úpravě</p>	<p>CIBULKA J., ČURDOVÁ E. MIHOLOVÁ D., STĚHULOVÁ I.</p>	<p>238</p>
CONFERENCES AND SEMINARS		KONFERENCE A SEMINÁŘE	
<p>20th International Kongres of Refrigeration 19.–24. September 1999 Sydney</p>	<p>► 20. Mezinárodní kongres chlazení 19.–24. září 1999 Sydney (Austrálie)</p>	<p>HOUŠKA M.</p>	<p>241</p>