SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

3. ročník konference

Food technology, food quality
Nové trendy v úchově potravin

VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE

Sponzoři

Zlatí sponzoři



Stříbrní sponzoři

















Bronzoví sponzoři









SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

3. ročník konference

Food technology, food quality
Nové trendy v úchově potravin

8. 2. 2024

Praha

Tereza Škorpilová, Aleš Rajchl
Editoři

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha

Praha 2024

Vědecký výbor:

prof. Ing. František Kvasnička, CSc. (Předseda)	VŠCHT Praha
doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.	VŠCHT Praha
prof. Ing. Tomáš Jirout, Ph.D.	ČVUT Praha
doc. MVDr. Josef Kameník, CSc., MBA	VFU Brno
doc. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D.	ČZU Praha
doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.	VŠCHT Praha
doc. Ing. Pavel Smetana, Ph.D.	JU České Budějovice
doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.	VŠCHT Praha

Organizační výbor:

doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D. (Předseda)

Ing. Tereza Škorpilová, Ph.D.

Ing. Eva Rudolfová

Ing. Zdeňka Urbančíková

Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.

Ing. Jan Pivoňka, Ph.D.

doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.

Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.

Publikace neprošla jazykovou ani odbornou úpravou.

Za obsah příspěvků odpovídají autoři.

© Tereza Škorpilová, Aleš Rajchl, 2024

ISBN 978-80-7592-263-2

OBSAH

R referát
P poster

Označení	Strana	**Autoři**: Název příspěvku
R5	9	**Vápenka L.:** Možnosti recyklace plastů pro jejich opětovné použití při kontaktu s potravinami
R13	14	**Moško J.:** Rizika hnojení kaly pro potravní řetězec
R14	16	**Ševčík R., Beňo F., Čížková H., Rudolfová E., Škorpilová T.:** Technolog neúdržných potravin
P1	20	**Benešová L., Golian J., Jakabová S., Čapla J., Čurlej J., Zeleňáková L., Zajác P:** Hodnotenie základného chemického zloženia pomocou NIR spektrofotometrie parených syrov slovenskej produkcie
P2	27	**Beňo F., Vojtíšek S., Ševčík R.:** Ultrazvuk, sous-vide – vliv na senzorické a nutriční vlastnosti masa
P3	37	**Bhujel N.K., Podskalská T., Pokhrel K., Kružík V., Čížková H.:** Comparison of three different methods for the determination of sulphur dioxide in fruit and vegetable products
P4	46	**Golian J., Benešová L., Jakabová S.:** Aktuálne trendy a kľúčové výzvy v potravinárskom priemysle
P5	54	**Horsáková I., Kvasnička F., Klaisnerová E-J.:** Využití chitosanu pro potlačení růstu kvasinek
P6	61	**Hruška F., Beňo F., Ševčík R.:** Rostlinné extrakty – využití pro výrobu masných výrobků
P7	68	**Jakabová S., Golian J., Benešová L., Čapla J., Čurlej J., Zeleňáková L., Zajác P.:** Hodnotenie obsahu soli a senzorického vnímania parených syrov slovenskej produkcie
P8	75	**Janoud Š., Hruška F., Ševčík R.:** Optimalizace 3D tisku potravin z pastovitých hmot
P9	82	**Krátká G., Alferyová N., Horsáková I.:** Optimalizace fermentačního procesu při výrobě kombuchy
P10	89	**Kružík V., Šístková I., Němečková I., Čížková H.:** Analýza těkavých látek u reformulovaných sýrů s plísní v těstě
P11	95	**Lauková A., Zábolyová N., Simonová M.P.:** Antimikrobiálne aktívne substancie produkované kmeňmi *Enterococcus hirae* zo surového kozieho mlieka
P12	100	**Lauková A., Zábolyová N., Simonová M.P.:** Využitie bakteriocínov na inhibíciu stafylokokov detegovaných v surovom kozom mlieku

P13	105	**Mrlík M., Vápenka L.:** Tepelná stabilita recyklovaného PET pro potravinářské použití
P14	112	**Nguyen N.T.Q., Kružík V., Čížková H.:** Review of types of honey and their quality in Vietnam
P15	118	**Podskalská T., Svobodová P., Smutná V., Čížková H.:** Využití metody FTIR pro hodnocení kvality vybraných produktů z rybízu
P16	125	**Šístková I., Málková M., Krátká G., Kružík V., Rajchl A., Kyselka J., Čížková H.:** Vliv zpracování na kvalitativní parametry řepkových olejů z liniových odrůd řepky olejky
P17	134	**Škorpilová T., Sluková M., Němečková I., Kameník J., Hrubá M., Rajchl A.:** Shrnutí výsledků a výstupů Grantu QK1910100
P18	138	**Škvorová P., Kouřimská L.:** Změny stability potravin vůči žluknutí po ošetření mikrovlnným zářením
P19	146	**Šviráková E., Lazoriková K., Kvasnička F.:** Tolerance nežádoucích bakterií *Asaia lannensis* k chitosanu
P20	152	**Šviráková E., Sedláčková S.:** Citlivost *Gluconacetobacter* sp. a *Komagataeibacter* spp. k sanitačním prostředkům používaným v nápojářském průmyslu
P21	161	**Tobolka A., Rajchl A.:** Vliv sacharidů na stabilitu barvy vybraných anthokyanů
P22	173	**Václavíková E., Votavová L., Vápenka L., Čikešová M.:** Změny funkčních parametrů polymerních obalových materiálů v závislosti na technologických podmínkách při výrobě potravin
P23	183	**Vápenka L., Novotná K., Václavíková E., Votavová L.:** Bariérové vlastnosti obalových materiálů z pohledu propustnosti a sorpce aromatických látek
P24	194	**Vápenka L., Stryczková V., Václavíková E., Votavová L.:** Hodnocení aktivních systémů balení založených na principu sorpce kyslíku
P25	203	**Votavová L., Václavíková E., Vápenka L., Sedlářová T.:** Vliv technologického opracování potravin na obsah, degradaci a uvolňování IAS, NLS a NIAS u materiálů určených pro kontakt s potravinami

R5

Možnosti recyklace plastů pro jejich opětovné použití při kontaktu s potravinami

Possibilities of recycling plastics for their reuse as food contact materials

Vápenka L.

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Plasty jsou syntetické organické polymery, vyráběné převážně z petrochemických surovin. Od vzniku prvního plastu v první polovině předminulého století se počet plastů dramaticky zvýšil a významně se rozšířila i oblast jejich použití. Plasty jsou nyní všudypřítomné a nakládání s plastovým odpadem začíná být tak stále větším problémem. V dnešní době se ročně vyrobí asi 350–380 milionů tun plastů na celém světě. Přesto je recyklace plastů ve srovnání s většinou ostatních sypkých materiálů stále poměrně omezená. To je dáno mnohdy velmi různorodými vlastnostmi a složení, těchto materiálů. Dnes je míra recyklace plastů v EU asi 33 % (2018). Aktuálně se míra využití a recyklace plastů v mnoha zemích zvyšuje a rozvíjí se tak mezinárodní trh s recyklovanými plasty. To je dáno i tím, že se vyvíjí, zavádí a zlepšují nové recyklační technologie. Přesto, aby se zvýšila nízká míra recyklace, průmysl čelí několika výzvám. Většina recyklovaných plastů se nevyužívá pro svou původní funkci z důvodu tzv. „downcyklace“, která je dána snížení kvality materiálu, a to především na úrovni jeho funkčních vlastností a zdravotní nezávadnosti. Klíčovou aktuální výzvou především pro potravinářský průmysl je potřeba zvýšit kvalitu regenerovaného a recyklovaného materiálu a zajistit uzavření materiálových a produktových cyklů.

Klíčová slova: *plasty, recyklace, materiály pro kontakt s potravinami*

SUMMARY

Plastics are synthetic organic polymers, produced mainly from petrochemical. Since the creation of the first plastic in the first half of the previous century, the number of plastics has increased dramatically and the area of their use has expanded significantly. Plastics are now ubiquitous and the management of plastic waste is becoming an increasing problem. Today, about 350-380 million tons of plastics are produced worldwide each year. Despite this, the recycling of plastics is still relatively limited compared to most other bulk materials. This is due to the often very diverse properties and composition of these materials. Today, the plastic recycling rate in the EU is about 33% (2018). Currently, the rate of use and recycling of plastics is increasing in many countries, thus developing the international market for recycled plastics. This is also due to the fact that new recycling technologies are being developed, introduced and improved. However, to increase the low recycling rate, the industry faces several challenges.

The majority of recycled plastics are not used for their original function due to the so-called "downcycling", which is due to a reduction in the quality of the material, especially at the level of its functional properties and health safety. A key current challenge, especially for the food industry, is the need to increase the quality of regenerated and recycled material and ensure the closure of material and product cycles.

Key words: *food packaging, functional properties*

ÚVOD

Plasty způsobily revoluci v naší společnosti a umožnily nám levně vyrábět různé materiály, které mají nesčetné využití v celém průmyslu. První tři syntetické plasty byly polystyren (PS) v roce 1839, polyvinylchlorid (PVC) v roce 1835 a bakelit v roce 1907. [1] Průmyslová výroba plastů se skutečně začala rozšiřovat asi v roce 1950, kdy celosvětová produkce plastů dosáhla 2 milionů tun ročně. [2] Současná světová produkce plastů je kolem 380 milionů tun ročně a odhaduje se, že lidstvo do konce roku 2050 vyrobí více než 30 000 milionů tun plastů. [2] Důvody rostoucí produkce jsou tři: [2]

- nové plastové materiály (vyrobené změnou struktury a podmínek zpracování plastů) umožňují použití plastů v nových aplikacích,
- rozvojový svět používá více plastů, protože se jejich ekonomika zlepšuje,
- klesající náklady na výrobu plastů v důsledku levných fosilních surovin.

Dosavadní výzkum ukazuje, že s 32 % všech plastů je špatně nakládáno (odhazováno nebo nevhodně likvidováno). Mezi 2 až 5 % plastů jsou transportovány do oceánu říčními cestami. [3] Zároveň jakýkoli plastový odpad na pevnině má potenciál nakonec se dostat do oceánu, protože oceán je mnohdy finální destinaci, kde končí odpady ze země. [4] Kritickým faktorem je to, že v životním prostředí se plasty pomalu rozkládají na mikroplasty, což jsou fragmenty. Menší než 5 mm. Nedávno byly mikroplasty dokonce nalezeny v troposféře. Mikroplasty se mohou do životního prostředí dostat také degradací plastového oblečení do odpadních vod. [5] Mezi degradační mechanismy patří zvětrávání, vyplavování, fragmentace a potenciálně asimilace a mineralizace. Plasty unikají do životního prostředí nesprávnou likvidací, přepravou plastů ze sběrných míst do centrálního zařízení a únikem ze zařízení na pevný odpad. Oceánské plasty mají dva dobře prozkoumané dopady na mořské a sladkovodní živočichy: požití odpadu – pohlcení plastů a nežádoucí uchycení v plastovém odpadu. [4]

PLASTOVÝ ODPAD A RECYKLACE

Z pohledu nakládání s plastovým odpadem je potřeba zmínit, že 40 % plastů se stále skládkuje. Vyspělé země mají často skládky se silným plastovým krytem, který zabraňuje z větší části úniku dalších částic do životního prostředí. [6] Méně rozvinuté země však mají často otevřené skládky, kde mohou plasty snadno unikat do životního prostředí. V USA, kde mají moderní infrastrukturu pro likvidaci pevného odpadu, se odhaduje, že do životního prostředí uniká 0,98–1,26 milionu metrických tun plastu (což odpovídá 2,33–2,99 % vyprodukovaného

plastového odpadu). [7] Velké množství plastového odpadu je také uvolňuje do životního prostředí při přírodních katastrofách. Například v roce 2011 zemětřesení Tohoku a tsunami v Japonsku uvolnily do oceánu odhadem 5 milionů tun trosek. Zároveň existují prognózy, že do roku 2030 přibude v oceánech po celém světě ročně 58,4 milionů tun plastů. [4]

Dalším způsobem nakládání s plastovým odpadem je jeho energetické využití, kdy se přibližně 14 % plastů spaluje. Spalování plastů sice nevytváří problém s pevným odpadem, ale vytváří ve velkém množství skleníkové plyny. [8]

Dalších 14 % je „recyklováno“ a 8 % je „kaskádově recyklováno - downcyklováno“ do materiálů nižší kvality a pouze 2 % plastů se používá v uzavřeném cyklu recyklace, kde lze využít původní vlastností plastů před recyklací. Množství recyklovaných plastů se v jednotlivých zemích liší, přičemž USA recyklují okolo 10 % a EU okolo 31 % spotřebovaných plastů. [8] Jak již diskutování diskutováno v tomto přehledu výše, nízké množství recyklovaných plastů je způsobeno několika důvody:

- celá řada plastů má širokou škálu složení a vlastností,
- recyklace většiny méně i více komplikovaných plastů je spojena s vysokými náklady na jejich sběr, třídění a čištění - zejména odstranění kontaminace,
- vysoké kapitálové náklady a technologické nejistoty pokročilých a nových možností recyklace.

Nedávné změny v legislativních opatřeních spolu s touhou spotřebitelů po udržitelnějších produktech vytvořily dramatický tlak průmyslu na pokročilejší technologie recyklace plastů. Některé plány předpokládají, že kapitálové výdaje ve výši 300 miliard dolarů, které jsou vyčleněny na novou kapacitu výroby plastů, by měly být přesměrovány právě na technologie recyklace plastů, aby byly splněny cíle oběhového hospodářství. [9]

Současnou i budoucí infrastrukturu pro technologie recyklace plastů lze rozdělit do několika kroků. Prvním krokem v recyklaci plastů je třídění plastových odpadů do různých toků prostřednictvím zařízení na dle využití materiálu. Tato zařízení vytřídí sklo, kovy, karton a plasty, uloží je na kauci a poté je prodává následnému zařízení provádějící recyklaci.

V případě recyklace plastových odpadů, lze tyto odpady rozdělit do čtyř oblastí: post-průmyslový odpad, post-spotřebitelský odpad a plasty, které jsou přítomné v komunálních pevných odpadech, a oceánské plasty. Post-průmyslový odpad má obvykle jednotnější složení, standardnější funkční vlastnosti a nižší obsah kontaminantů než jiné typy plastových odpadů. Průmysl často recykluje tento odpad v uzavřených recyklačních procesech. Tento odpad však často obsahuje vícevrstvé fólie, které nelze recyklovat mechanickou recyklací kvůli nekompatibilitě materiálů. Současná infrastruktura pro recyklaci plastů se tedy primárně zaměřuje na mechanickou recyklaci tuhých plastů. Zařízení pro recyklaci plastů pak tedy zpravidla neshromažďují pružné fólie nebo textilie, protože může dojít potencionálně k poškození recyklačního zařízení (ucpání atd.). Zároveň plastový odpad z oceánů se v současnosti nesbírá ani nerecykluje ve velkém. Tento odpad se tedy se primárně posílá na skládky, i když některá recyklační zařízení mohou zpracovávat i tyto toky.

Jako určitou alternativu částečně řešící některé z výše uvedených problémů jsou technologie pro chemickou recyklaci plastů. Plasty totiž za specifických podmínek mohou podléhat tepelné degradaci za vzniku kapaliny známé jako pyrolýzní olej. Pyrolýzový olej lze

převést na aromáty a olefiny buď krakováním vodní párou, nebo použitím různých forem katalytického zpracování. Tím vznikají aromatické látky a olefiny, které lze poté znovu použít k výrobě nových vysoce čistých recyklovaných plastů se stejnými vlastnostmi, které mají původní plasty. Vícevrstvé plasty lze zpracovávat pomocí recyklačních přístupů založených na rozpouštění za vzniku granulátu, který lze poté znovu vytvarovat. Polyestery a polykarbonáty lze chemicky nebo enzymaticky převést na své monomery methanolýzou a jinými technologiemi. Tyto monomery lze poté znovu použít k přepracování polymerů. Plasty lze také zplyňovat na syntézní plyn, který lze použít k výrobě metanolu nebo dopravních paliv. Metanol lze poté přeměnit na aromatické látky a olefiny. [10] Další přístupy k recyklaci plastů, které se v současnosti primárně studují na akademické půdě, zahrnují hydrogenlýzu k výrobě maziv a olejů, funkcionalizaci plastů a vytváření slitin plastů.

ZÁVĚR

Ve srovnání s jinými technickými materiály (tj. sklo, kov, papír atd.) jsou plasty lehké a lze z nich snadno vyrobit produkty pro různé aplikace. Produkce plastového odpadu a podíl odpadních plastů se zvýšily díky růstu produkce plastů. Míra recyklace plastů je stále daleko za tím, co by bylo potřeba pro efektivní a účinnou cirkulární ekonomiku.

Prvním krokem recyklace plastů je sběr a třídění plastů. Přičemž existuje stále více příležitostí, jak zamezit tomu, aby plastový odpad končil na skládkách. Toho lze dosáhnout zvýšením počtu třídících a recyklačních zařízení, a zlepšením efektivity procesu v průběhu recyklačního procesu, jako je lepší třídění přidáním více automatických optických třídičů. To však bude mít za následek dodatečné kapitálové náklady pro recyklační zařízení. Navíc provoz těchto zařízení je mnohdy spojen s problémy provozně-personálními. Dalším problémem je nedostatečná předvídatelnost vlastností vstupní suroviny (odpadu k recyklaci). Problémem je také zvýšená kontaminace toku odpadních materiálů, zejména u materiálu shromážděného z oblastí, které nemají tak dobře vyvinutý systém třídění odpadů. [11]

Mechanická recyklace dobře funguje pro velmi homogenní plastový proud, jako jsou například HDPE láhve na mléko. Kontaminace a další plasty však snižují kvalitu plastů vyrobených při mechanické recyklaci. Některé plasty nemohou projít mechanickou recyklací nebo po zahřátí po vytvrzení nejsou plastické (termosety). Obdobně vícevrstvé plastové výrobky nelze tedy prakticky mechanicky recyklovat. Tyto vícevrstvé obalové materiály jsou náročnější na recyklaci, protože každý plast je v jiné vrstvě, má jinou teplotu tání, různé plasty jsou proto často nemísitelné, a navíc velmi často obsahují adhesiva pro slepení vrstev, takže jsou prakticky nerecyklovatelné. [12] Fólie tedy velmi často produkují při mechanické recyklaci produkt nízké kvality. Ke zlepšení kvality produktů vznikajících na bázi mechanické recyklace lze použít pokročilejší separační techniky, které vedou k získání suroviny s vysokým stupněm homogenity. Navíc může být kvalita mechanicky recyklovaných materiálů zvýšená přídavky aditiv ovlivňujících například stupeň krystalinity, molekulovou hmotnost a rigiditu jednotlivých polymerních řetězců.

Chemická recyklace v podobě pyrolýzy, zkapalňování a zplyňování má výhodu v tom, že lze zpracovávat směsi plastů a snadněji se vypořádat s kontaminací než v případě mechanické recyklace. Do praxe je uvedeno již několik metod pyrolýzy plastů. [13]

Navzdory neustálému vývoji technologií čelí komerční procesy pyrolýzy plastů výzvám, které lze řešit až dalším výzkumem. Důležité je lepší pochopení složitých reakčních

mechanismů řídících depolymeraci plastů, které by mohlo zlepšit selektivitu k efektivní produkci požadovaných produkčních molekul. Zároveň bude zapotřebí nových přístupů k intenzifikaci procesů důležitých pro překonání kombinace relativně pomylých rychlostí chemických reakcí a omezení přenosu tepla a hmoty chrakterizující mnoho pyrolýzních procesů a souvisejících se ziskovostí pyrolýzních zařízení.

PODĚKOVÁNÍ

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt A1_FPBT_2023_004.

LITERATURA

1. R. C. Thompson, S. H. Swan, C. J. Moore and F. S. Vom Saal, Our Plastic Age, The Royal Society Publishing, 2009, vol. 364, pp. 1973–1976.
2. R. Geyer, J. R. Jenna, and K. L. Law, Production, Use, and Fate of all Plastics ever Made, Sci. Adv., 2017, 3(7), e1700782.
3. J. R. Jambeck, R. Geyer, C. Wilcox, T. R. Siegler, M. Perryman, A. Andrady, R. Narayan and K. L. Law, Plastic waste inputs from land into the ocean, Science, 2015, 347(6223), 768–771.
4. National Academies of Sciences, E.; Medicine, Reckoning with the U.S. Role in Global Ocean Plastic Waste. 2021.
5. S. Allen, D. Allen, F. Baladima, V. Phoenix, J. Thomas, G. Le Roux and J. Sonke, Evidence of Free Tropospheric and Long-Range Transport of Microplastic at Pic Du Midi Observatory, Nat. Commun., 2021, 12(1), 1–10.
6. C. Benson, Waste containment: Strategies and performance, Aust. Geomech., 2001, 36(4), 1–25.
7. [K. L. Law, N. Starr, T. R. Siegler, J. R. Jambeck, N. J. Mallos and G. H. Leonard, The United States' contribution of plastic waste to land and ocean, Sci. Adv., 2020, 6(44), eabd0288.
8. A. J. Ragauskas, G. W. Huber, J. Wang, A. Guss, H. M. O'Neill, C. S. K. Lin, Y. Wang, F. R. Wurm and X. Meng, New Technologies are Needed to Improve the Recycling and Upcycling of Waste Plastics, Wiley Online Library, 2021, vol. 14, pp. 3982–3984.
9. HS Markit Analysis Indicates Need for Multibillion-Dollar Capital Spending to Achieve a "Circular Plastics Economy" by 2050. https://news.ihsmarkit.com/prviewer/release_only/slug/bizwire-2021-10-11-ihs-markit-analysis-indicates-need-for-multibillion-dollar-capital-spending-to-achieve-a-circular-plastics-economy-by-2050.
10. S. Ilias and A. Bhan, Mechanism of the Catalytic Conversion of Methanol to Hydrocarbons, ACS Catal., 2013, 3(1), 18–31.
11. ASTRX ASTRX Review of Material Flow at MRFs and Reprocessors; Sustainable Packaging Coalition and The Recycling Partnership, 2018.
12. N. C. Maragou, A. Makri, E. N. Lampi, N. S. Thomaidis and M. A. Koupparis, Migration of bisphenol A from polycarbonate baby bottles under real use conditions, Food Addit. Contam., Part A, 2008, 25(3), 373–383.
13. J. Aguado, D. P. Serrano and J. M. Escola, Fuels from Waste Plastics by Thermal and Catalytic Processes: A Review, Ind. Eng. Chem. Res., 2008, 47(21), 7982–799.

R13

Rizika hnojení kaly pro potravní řetězec

Risks of sludge fertilisation for the food chain

Jaroslav Moško [a, b]

[a] Výzkumná skupina odpadového hospodářství a udržitelných technologií, Ústav chemických procesů AV ČR, v. v. i., Rozvojová 1/135, 165 00 Praha 6 – Suchdol
[b] Ústav energetiky, Fakulta technologie ochrany prostředí, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Fosfor, živinový prvek nezbytný pro růst plodin, je řazen na seznamu kritických surovin EU, a proto je součástí strategie Evropských států hledání druhotných surovin, ze kterých lze fosfor získávat či přímo využívat. Jednou z komodit obsahujících relativně vysoké množství fosforu je čistírenský kal (ČK), odpad vznikající během čištění odpadních vod, který je v ČR do značné míry zemědělsky využíván (cca 30 % přímá aplikace a rekultivace, cca 40 % kompostování). Využívání ČK v zemědělství dává smysl z pohledu vysokého obsahu právě fosforu, ale i dusíku a organické hmoty. Nicméně, povahou vzniku ČK je do nich vnášeno i znečištění ve formě těžkých kovů, organických polutantů (např. persistentní organické polutanty, farmaka, hormonální látky) a patogenů, které nemusí být v procesu úpravy kalů zneškodněny a hnojením tak mohou vstupovat do potravního řetězce, čímž představují riziko pro zdraví zvířat a lidí, a současně představují riziko z pohledu možnosti úniku do životního prostředí. Přednáška představí problematiku zacházení s ČK s ohledem na jejich znečištění a dále budou diskutovány možnosti zpracování ČK za účelem využití hnojivového potenciálu se současnou minimalizací rizik spojených s potenciálním vnosem polutantů na půdu.

Klíčová slova: *čistírenský kal, fosfor, polutanty*

PODĚKOVÁNÍ

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A1_FTOP_2023_001.

SUMMARY

Phosphorus, a nutrient essential for plant growth, is on the EU's list of critical raw materials, so part of the European countries' strategy is to find secondary raw materials from which phosphorus can be extracted or used directly. One of the raw materials containing relatively high amounts of phosphorus is sewage sludge, a waste produced during wastewater treatment, which in the Czech Republic is largely used for agricultural purposes (about 30 % direct application and reclamation, about 40% composting). The use of the sludge in agriculture makes sense due to its high content of phosphorus, but also of nitrogen and organic matter. However, due to the nature of the sludge generation, it also introduces pollution in the form of heavy metals, organic pollutants (e.g. persistent organic pollutants, pharmaceuticals, hormonal substances) and pathogens, which may not be eliminated in the sludge treatment process and thus enter the food chain through fertilization – posing a risk to animal and human health, and at the same time posing a risk in terms of the possibility of leakage into the environment. The presentation will introduce the problems sewage sludge utilization with respect to its contamination and will also discuss the possibilities of treating the sludge in order to exploit its fertilizer potential while minimizing the risks associated with the potential introduction of pollutants into the soil.

Keywords: *sewage sludge, phosphorus, pollutants*

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported from the grant of Specific university research – grant No A1_FTOP_2023_001.

R14

Technolog neúdržných potravin

Technologist of perishable foods

Rudolf Ševčík, Filip Beňo, Helena Čížková, Eva Rudolfová, Tereza Škorpilová

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvic

SOUHRN

Řada drobných, ale i středních a velkých provozovatelů potravinářských podniků se potýká s nedostatkem kvalitního personálu. Chybí především lidé, kteří mají potravinářské vzdělání a zároveň jsou schopni vést a řídit jednotlivá provozní oddělení to znamená zastávat funkci na úrovni střední management. Často jsou pozice středního managementu obsazovány personálem**,** který je sice schopen řídit jiný personál, ale chybí mu vzdělání v oblasti bezpečnosti a technologie potravin, a proto není schopen správně reagovat na vzniklé situace a potřeby provozovatele potravinářského podniku. Kurz Technolog neúdržných potravin (TNP) by měl napomoci provozovatelům potravinářských podniků zvýšit kvalifikaci klíčového středního managementu. Kurz je také vhodný pro začínající provozovatele potravinářských podniků, kterým napomůže pochopit legislativní a technologické aspekty výroby neúdržných potravin a pokrmů.

Klíčová slova: *výroba potravin a pokrmů, vzdělávání, kurz technologie a bezpečnosti potravin*

SUMMARY

A number of small, as well as medium and large food business operators are facing a lack of quality staff. In particular, there is a shortage of people with a food science background and who are also able to lead and manage individual operational departments, i.e. hold middle management positions. Often middle management positions are filled by personnel who are capable of managing other employees but lack training in food safety and technology and therefore unable to respond properly to situations and needs of the food business operator. Technologist of perishable foods course should help food business operators to upgrade the skills of key middle management. The course is also suitable for aspiring food business operators to help them understand the legislative and technological aspects of the production of non-perishable foods and meals.

Keywords: *food safety and technology course, education, production of food and ready meel*

ÚVOD

Kurz Technolog výroby neúdržných potravin (TNP) byl na Ústavu konzervace potravin VŠCHT Praha vytvořen v rámci projektu Národní plán obnovy pro oblast vysokých škol pro roky 2022-2024 (Registrační číslo projektu: NPO_VŠCHT_MSMT-16595/2022.

Cílem projektu je:

- posílit třetí roli vysoké školy jako poskytovatele celoživotního vzdělávání pro širokou veřejnost orientovaného na výkon povolání a rozšiřování dovedností.
- zvýšit nabídku upskilling/reskilling kurzů poskytovaných pro rozšíření kvalifikace absolventů středních a vysokých škol pro výkon jejich povolání.
- prostřednictvím výukových médií a různých forem nabízených kurzů zvýšit ICT gramotnost účastníků vzdělávání.
- nalézt vhodné formy předávání nejnovějších vědecko-výzkumných poznatků univerzity široké veřejnosti uplatnitelných při výkonu povolání.

Kurz Technolog výroby neúdržných (TNP) potravin je zaměřen na vzdělávání středního managementu (mistrů, vedoucích směn a úseků, manažerů a mistrů kvality, živnostníků a začínajících výrobců potravin) organizací působících jako provozovatel potravinářského podniku. Kurz slouží k získání znalostí v oboru výroby potravin se zaměřením zejména na technologie, legislativu, zdravotní nezávadnost a kvalitu vyráběných potravin. Absolventi kurzu se seznámí se základy konzervace potravin, legislativou v oblasti potravin a technologií výroby a hodnocením neúdržných potravin. Absolventi budou schopni zhodnotit a navrhnout technologii výroby, vypracovat analýzu nebezpečí a příručku systému kritických kontrolních bodů, správně navrhnou značení a etiketu produktu a zhodnotit základní jakostní a bezpečnostní parametry vyráběných potravin. Své uplatnění absolventi kurzu naleznou jak u stávajících provozovatelů potravinářských podniků, tak u nově vznikajících producentů potravin a pokrmů. Kurz tvoří cyklus přednášek a laboratorních úloh, které jsou určeny osobám, které jsou odpovědné za kvalitu a zdravotní nezávadnost produkce neúdržných potravin a pokrmů (masné výrobky, výrobky z ovoce a zeleniny, hotové pokrmy apod.). Absolventi kurzu získají základní orientaci v problematice úchovy potravin, potravinářské legislativě, technologií výroby a hodnocení zdravotní nezávadnosti potravinářských výrobků a pokrmů. V roce 2023 proběhl pilotní kurz Technolog neúdržných potravin, jehož cílem bylo připravit a zrevidovat výukové materiály a ověsit možnost výuky online v rámci celoživotního vzdělávání. Výuka a ověření znalostí probíhalo formou online přednášek, které byly kombinovány samostatnou prací.

Online výuka probíhala v následujících předmětech:

- Základní systémy bezpečnosti a kvality potravin
- Základy potravinářské legislativy
- Základy konzervace a mikrobiologie potravin
- Vybrané technologie potravin živočišného původu
- Vybrané technologie potravin rostlinného původu

Prezenční formou probíhala výuka předmětu:

- Provozní a praktické laboratoře hodnocení potravin, kdy uchazeči hodnotili jakostní a mikrobiologické parametry důležité pro jakost a zdravotní nezávadnost potravin a pokrmů (Obrázek 1).
- Na základě pilotního kurzu byl připraven následný kurz, s jehož průběhem se počítá v akademickém roce 2024/2025.



Obrázek 1: Příklady produktů vyrobených a hodnocených v rámci kurzu TNP

ZÁKLADNÍ INFORMACE O NÁSLEDUJÍCÍM KURZU

Kontaktní hodiny týdně:	3 hodiny
Celková pracovní zátěž:	168 hodin
Kredity ECTS:	6 kreditů
Datum zahájení kurzu:	30. 9. 2024
Datum ukončení kurzu:	31. 3. 2025
Garant kurzu:	doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D. (rudolf.sevcik@vscht.cz)
Kontaktní osoba kurzu:	Ing. Eva Rudolfová, (eva.rudolfova@vscht.cz)
Aktivity a metody:	Online přednášky, samostatné práce, laboratorní cvičení, samostudium.
Přítomnost v kampusu:	Není vyžadována přítomnost na přednáškách, povinná účast na laboratorním cvičení.

REGISTRACE

Datum zahájení registrace:	**02. 04. 2024**	Počet míst:	**12**
Uzávěrka přihlášek:	**09. 09. 2024**	Minimální počet účastníků:	**5**

V případě jakýchkoliv administrativních dotazů mohou žadatelé kontaktovat Ing. Evu Rudolfovou.

ZÁVĚR

Pilotní kurz Technolog výroby neúdržných (TNP) úspěšně absolvovalo celkem sedm frekventantů kurzu z osmi přihlášených. Absolventi kurzy získali nejen teoretické znalosti, ale i praktické zkušenosti s výrobou a hodnocením potravin a pokrmů, které si osvojili zejména během poloprovozní výroby a hodnocení vybraného potravinářského produktu. Kurz je koncipován tak, aby napomohl rozvoji a zvýšení konkurenceschopnosti provozovatelů potravinářských podniků díky zvýšení kvalifikace klíčového středního managementu, a to díky využití online a kombinovaných forem výuky, která mohou flexibilně reagovat na pracovní vytížení zaměstnanců. S realizací dalšího běhu kurzu Technolog neúdržných potravin se počítá v akademickém roce 2024/2025.

PODĚKOVÁNÍ

Tento výstup vznikl v rámci projektu: NPO_VŠCHT_MSMT-16595/2022 Řešení projektu adaptace, digitalizace a elektronizace studia VŠCHT Praha (ADESTA).

LITERATURA

1. Celoživotní vzdělávání na VŠCHT Praha (2024) Dostupné z: https://cv.vscht.cz/ (dostupné: on-line, cit. 06. 02. 2024).
2. Národní plán obnovy 2022-2024 -Vysoká škola chemicko-technologická v Praze (2024), Dostupné z: https://www.vscht.cz/veda-a-vyzkum/vyzkumny-profil-vscht-praha/resene-projekty/npo (dostupné: on-line, cit. 06. 02. 2024)
3. Kurzy a poradenství (2024). Dostupné z: https://ukp.vscht.cz/kurzy (dostupné: on-line, cit. 06. 02. 2024).

Financováno Evropskou unií NextGenerationEU
Národní plán obnovy
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
VYSOKÁ ŠKOLA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ V PRAZE

P1

Hodnotenie základného chemického zloženia pomocou NIR spektrofotometrie parených syrov slovenskej produkcie

Evaluation of the basic chemical composition using NIR spectrophotometry of steamed cheeses of Slovak production

Lucia Benešová, Jozef Golian, Silvia Jakabová, Jozef Čapla, Jozef Čurlej, Lucia Zeleňáková, Peter Zajác

Výskumné centrum AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

SOUHRN

Bola realizovaná štúdia, ktorá preskúmala základné chemické zloženie 18 druhov syrov, ktoré boli buď údené alebo neúdené a vyrobené z kravského a ovčieho mlieka. Na meranie obsahu tuku, bielkovín a sušiny v týchto vzorkách bola využitá FT-NIR spektroskopia. Analytická analýza údajov bola vykonaná pomocou štatistického programu XLSTAT. Zistili sa výrazné štatistické rozdiely v obsahu sušiny, tuku a bielkovín medzi jednotlivými vzorkami syra ($p < 0,05$). Syry nevykazovali jednotný chemický profil. Najnižší obsah bielkovín bol zaznamenaný v neúdenom parenom syre z ovčieho mlieka (19,00±0,11 %), zatiaľ čo najvyšší obsah bol zistený v údenom parenom syre z ovčieho mlieka (36,75±0,07 %). V prípade obsahu tuku mal najnižší hodnotu neúdený parený syr z kravského mlieka (18,34±0,03 %) a najvyšší hodnotu mal údený parený syr z ovčieho mlieka (30,26±0,06 %). Čo sa týka obsahu sušiny, najnižší bol u neúdeného pareného syra z kravského mlieka (47,75±0,23 %) a najvyšší u údeného pareného syra z ovčieho mlieka (63,92±0,12 %). Využitie FT-NIR spektroskopie pri hodnotení kvality týchto syrov by mohlo nahradzovať tradičné laboratórne metódy v potravinárskom priemysle, prinášajúc výhody jednoduchej prípravy vzoriek, ľahkej manipulácie a rýchleho získavania výsledkov. Chemické zloženie syrov poskytuje dôležité informácie o ich nutričnej hodnote, podčiarkujúc význam tejto technológie pri hodnotení potravín.

Kľúčová slova: *parené syry, NIR spektrofotometer, bielkoviny, tuk, sušina*

SUMMARY

A study was conducted to examine the basic chemical composition of 18 types of cheeses, either smoked or unsmoked, made from cow's and sheep's milk. FT-NIR spectroscopy was employed to measure the content of fat, proteins, and dry matter in these samples. Analytical data analysis was performed using the statistical program XLSTAT. Significant statistical differences were found in the content of dry matter, fat, and proteins among the various cheese samples ($p < 0.05$). The cheeses did not exhibit a uniform chemical profile. The lowest protein content was recorded in unsmoked steam cheese from sheep's milk

(19.00±0.11%), while the highest content was observed in smoked steam cheese from sheep's milk (36.75±0.07%). Regarding fat content, the lowest value was found in unsmoked steam cheese from cow's milk (18.34±0.03%), and the highest value was in smoked steam cheese from sheep's milk (30.26±0.06%). As for dry matter content, the lowest was in unsmoked steam cheese from cow's milk (47.75±0.23%), and the highest was in smoked steam cheese from sheep's milk (63.92±0.12%). The use of FT-NIR spectroscopy in assessing the quality of these cheeses could replace traditional laboratory methods in the food industry, offering advantages in terms of easy sample preparation, convenient manipulation, and rapid result acquisition. The chemical composition of the cheeses provides crucial information about their nutritional value, emphasizing the importance of this technology in food evaluation.

Keywords: *steamed cheeses, NIR spectrophotometer, proteins, fat, dry matter*

ÚVOD

Mliečne produkty zohrávajú kľúčovú a významnú úlohu v širokej škále potravinových produktov. Súčasne je hodnotenie a kontrola ich kvality predmetom značného záujmu. Tradične sa na hodnotenie kvality mliečnych produktov používali rôzne chemické analýzy (Kamal, 2015). Predovšetkým sa ako referenčné metódy objavili techniky kvapalnej a plynovej chromatografie, ktoré poskytujú presné a spoľahlivé informácie o kvalitatívnom a kvantitatívnom zložení týchto produktov (Kamal, 2015). Ďalšou spektroskopickou metódou v oblasti analýzy potravín, najmä pri klasifikácii mliečnych produktov podľa pôvodu suroviny a rozlišovaní mliečnych tukov od substitútov rastlinných tukov, je jadrová magnetická rezonancia (Monakhova et al., 2013; Ivanova et al., 2022). Avšak tieto techniky majú vrodené nevýhody, ktoré ich robia nepraktickými pre hromadnú výrobu a kontrolu kvality. Takéto analýzy vyžadujú vysoko kvalifikovaný personál, drahé vybavenie, nákladné a potenciálne škodlivé chemické činidlá a sú časovo náročné, čím bránia ich použitiu ako rýchle hodnotenia. Potreba rýchlych, nákladovo efektívnych a nedeštruktívnych analýz viedla k použitiu rôznych spektroskopických techník. Blízka infračervená spektroskopia (NIRS) spolu s vhodnými chemometrickými metódami získava na význame pri hodnotení kvality mliečnych produktov vzhľadom na svoju nízku cenu, rýchle zhromažďovanie údajov a minimálne požiadavky na prípravu vzoriek (Kamal, 2015; De Marchi et al., 2018; Lei and Sun, 2019; Yakubu et al., 2022). Spektrálne rozdiely spolu s dohľadanými metódami klasifikácie umožňujú NIR technológiám rozlišovať vzorky syrov podľa dozrievacích časov, značiek a skladovacích teplôt. V prehľadovej štúdii De Marchi et al. (2018) boli zhrnuté výsledky z vedeckej literatúry dostupnej online v období od roku 2013 do roku 2017 týkajúce sa aplikácie infračervenej spektroskopie pri analýze mliečnych produktov. Lei a Sun (2019) preskúmali rôzne nedeštruktívne metódy vrátane NIRS na hodnotenie kvalitatívnych vlastností syrov. Yakubu et al. (2022) poskytli nedávny prehľad aplikácie NIR spektroskopie pri analýze mliečnych produktov. Nový a výkonný nástroj pre analýzu údajov potravinových produktov, najmä pokiaľ ide o obsah vody a štruktúru vody, bol predstavený pomocou akvafotomiky (Tsenkova, 2009).

Náš príspevok sa venuje hodnoteniu neúdených a údených parených syrov vyrobených zo slovenského kravského a ovčieho mlieka. Tieto syry boli zapojené do súťažného hodnotenia

na Memoriáli doc. Gyarmatyho 2023, pričom hlavným cieľom bolo analyzovať základné chemické zloženie pomocou NIR spektrofotometra.

MATERIÁL A METODIKA

Do tejto štúdie boli zahrnuté vzorky neúdených a údených parených syrov. Čerstvé vzorky sa strúhali pomocou elektrického strúhaču Concept ES 1000 (Concept, Česká republika) a zlisovali do 90 mm Petriho misiek. Vzorky syrov sa analyzovali pomocou spektroskopu FT-NIR Tango (Bruker Optics, Nemecko). Z každej zmesi sa naplnilo 10 Petriho misiek. Merania sa uskutočňovali trojmo. Štatistická analýza údajov bola vykonaná v XLSTAT (v. 2020.4.1 Addinsoft, Francúzsko). Údaje boli testované pomocou Shapiro-Wilk testu a štatistického testu ANOVA (Tukey test), aby sa určili významné rozdiely vo vybraných parametroch (obsah tuku, bielkovín, sušiny). Na sumarizáciu a vizualizáciu informácií v našom súbore údajov bolo použité grafické vyobrazenie pomocou deskriptívnej štatistiky (boxploty).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

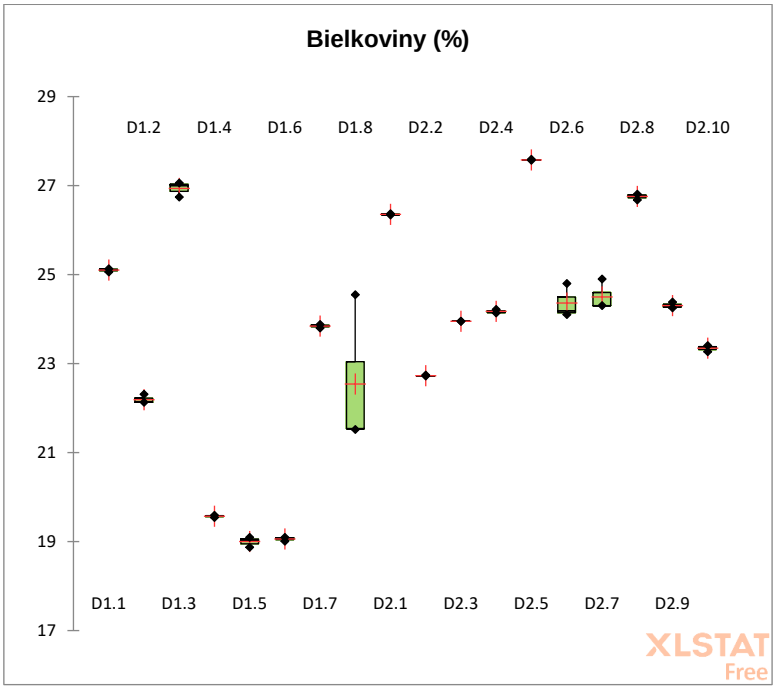
Priemerné hodnoty a štandardné odchýlky chemického zloženia pre neúdené a údené parené syry sú uvedené v tabuľke č. 1. Nakoľko vypočítaná p hodnota (0,873) bola vyššia ako p = 0,05 potvrdilo sa, že údaje pochádzajú z normálneho rozloženia.

Tabulka 1: Priemerné zloženie (priemer ± SD) analyzovaných druhov neúdených a údených parených syrov

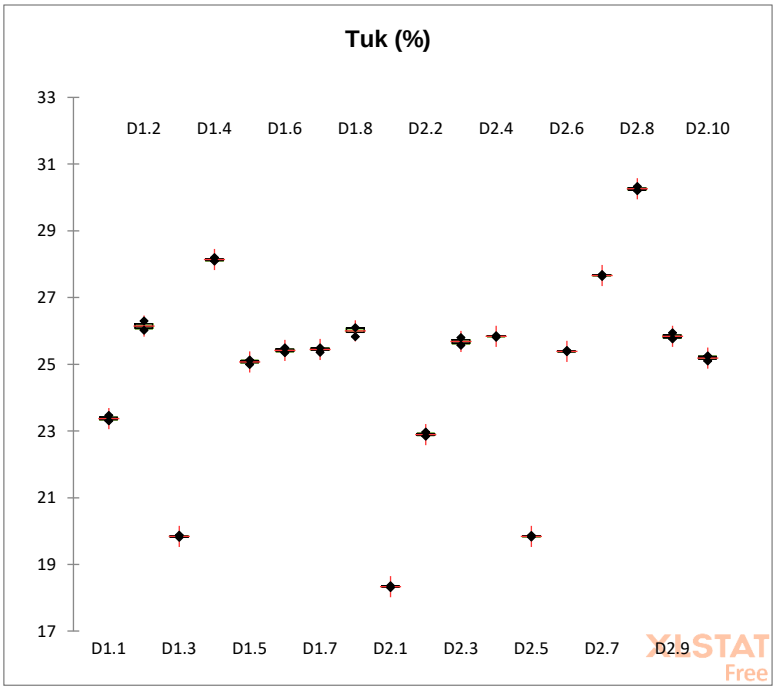
Vzorky	Bielkoviny (%)	Tuk (%)	Sušina (%)
Parené syry neúdené			
D1.1 Ovčia parenica	25,10±0,04a	23,88±0,08a	53,80±0,41a
D1.2 Nite ovčie	22,19±0,10bc	26,15±0,14b	54,91±0,32b
D1.3 Pareničky	26,93±0,17d	19,84±0,03c	49,12±0,08c
D1.4 Kravská parenica	19,57±0,03ef	28,14±0,05d	51,07±0,09d
D1.5 Ovčie nite	19,00±0,11eg	25,07±0,07e	49,54±0,29c
D1.6 Kravské nite	19,06±0,04fg	25,42±0,08f	47,75±0,23e
D1.7 Tekovský salám – ovčí syr	23,84±0,04abh	25,44±0,07f	55,42±0,12b
D1.8 Roľnícke cverny	22,54±1,74ch	26,01±0,15b	52,85±0,18f
Parené syry údené			
D2.1 Ovčia parenica	26,35±0,02a	18,34±0,03a	51,14±0,04a
D2.2 Pareničky	22,73±0,01b	22,90±0,06b	53,23±0,24b
D2.3 Bačove uzlíky	23,95±0,01cde	25,68±0,12cd	55,40±0,15c
D2.4 Ovčí syr	24,17±0,04dfgh	25,84±0,03ce	55,12±0,05c
D2.5 Pareničky	27,58±0,01i	19,85±0,02f	50,85±0,21a
D2.6 Oštiepok	24,36±0,38ehjk	25,39±0,02g	52,48±0,18d
D2.7 Kravská parenica	24,50±0,35gjl	27,67±0,03h	57,26±0,08e
D2.8 Ovčí syr	36,75±0,07a	30,26±0,06i	63,92±0,12f
D2.9 Kravské nite	24,30±0,07cfkl	25,84±0,10de	57,46±0,07e
D2.10 Tekovský salám – ovčí syr	23,35±0,07m	25,19±0,08j	56,15±0,17g

Poznámka: a-m znamená, že riadky s rôznym písmenom sú štatisticky odlišné (Tukeyho test, $p < 0,05$).

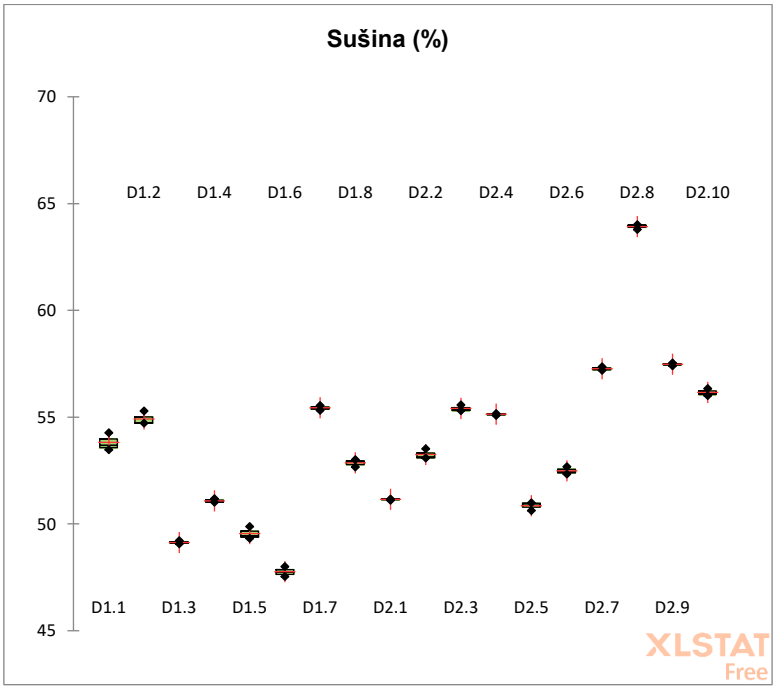
Najnižší obsah bielkovín bol stanovený vo vzorke D1.5 parený syr neúdený z ovčieho mlieka (19,00±0,11 %) a najvyšší obsah bol stanovený vo vzorke D2.8 parený syr údený z ovčieho mlieka (36,75±0,07 %). Najnižší obsah tuku bol stanovený vo vzorke D2.1 parený syr údený z ovčieho mlieka (18,34±0,03 %) a najvyšší obsah bol vo vzorke D2.8 parený syr údený z ovčieho mlieka (30,26±0,06 %). Najnižší obsah sušiny mala vzorka D1.6 parený syr neúdený z kravského mlieka (47,75±0,23 %) a najvyšší obsah bol vo vzorke D2.8 parený syr údený z ovčieho mlieka (63,92±0,12 %). Na obrázkoch 1-3 je uvedené grafické zobrazenie chemického zloženia pre jednotlivé vzorky pomocou boxplotov. Tieto grafy vizuálne zobrazujú distribúciu číselných údajov a šikmosť zobrazením kvartilov (alebo percentilov) údajov a priemerov.



Obrázok 2: Boxplot pre obsah bielkovín v neúdených a údených syroch



Obrázok 2: Boxplot pre obsah tuku v neúdených a údených syroch



Obrázok 3: Boxplot pre sušinu v neúdených a údených syroch

Stredné hodnoty chemického zloženia korešpondovali s údajmi uvedenými pre iné podobné druhy syrov, ktoré boli získané priemyselným procesom (Salvadori del Prato, 2001). V štúdii Parrini et al. (2020) sa využila FT-NIR spektroskopia na analýzu syrov Erborinato a Marzolino, pričom tieto syry preukázali vysokú variabilitu vo vlhkosti, bielkovinách a tuku, zatiaľ čo syr Stracchino bol menej variabilným výrobkom. Väčšiu variabilitu v syre Erborinato možno pripísať odlišným vlastnostiam mlieka, keďže farma na výrobu tohto syra používala zmes ovčieho a kozieho mlieka. Napriek tomu aj ďalšie faktory, ako sú špecifické techniky

výroby syra a absencia štandardizovaných protokolov kontroly výroby na jednotlivých farmách, by mohli ovplyvniť úroveň variability. Existuje niekoľko výskumov, v ktorých autori demonštrujú schopnosť NIR spektroskopie na určenie zloženia syra a atribútov kvality. Napríklad Gonzales-Martin et al. (2020) dokazujú vo svojej práci schopnosť NIR poskytovať rýchle a spoľahlivé informácie o lipidových profiloch vzoriek syra. McKenna (2001) sa snažil nájsť lepší spôsob merania obsahu vlhkosti v syre.

ZÁVER

V rámci tejto štúdie sme identifikovali, že FT-NIR spektroskopia v spojení s chemometrickým vyhodnotením dát predstavuje užitočný a efektívny nástroj na posúdenie chemického zloženia vzoriek syrov vyrábaných z kravského a ovčieho mlieka. Využitie FT-NIR (Fourier-transform near-infrared) spektroskopie pri hodnotení kvality týchto syrov by prinášalo viaceré výhody. Jednou z hlavných výhod je jednoduchá a nenáročná príprava vzoriek, ktorá zahŕňa minimálnu komplikáciu a neinvazívne postupy. Taktiež manipulácia s materiálom je pohodlná a ľahká, a výsledky analytiky sú k dispozícii rýchlo. Táto metóda by mohla nahradiť tradičné laboratórne analytické postupy, ktoré sú bežne využívané v potravinárskom priemysle. FT-NIR spektroskopia ponúka efektívnejšie a často menej časovo náročné riešenie pre hodnotenie kvality potravinárskych produktov. Analýza chemického zloženia analyzovaných syrov je kľúčovým prínosom, pretože poskytuje podrobné informácie o ich nutričnej hodnote. Týmto spôsobom zdôrazňuje dôležitosť FT-NIR spektroskopie v oblasti hodnotenia potravín a naznačuje možné vylepšenia v procese kontroly kvality syrov.

POĎAKOVANIE

Analýzy a príspevok vznikli s finančnou podporou projektu Agentúry pre podporu výskumu a vývoja – projekt č. APVV-22-0402, projektu VEGA č. 1/0239/21.

LITERATURA

1. Kamal M., Karoui R. 2015. Analytical methods coupled with chemometric tools for determining the authenticity and detecting the adulteration of dairy products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 46, 27-48.
2. Monakhova Y. B., Godelmann R., Andlauer C., Kuballa T., Lachenmeier D. W. 2013. Identification of Imitation Cheese and Imitation Ice Cream Based on Vegetable Fat Using NMR Spectroscopy and Chemometrics. *International Journal of Food Science*, 2013, 1-9.
3. Ivanova M., Hanganu A., Dumitriu R., Tociu M., Ivanov G., Stavarache C., Popescu L., Chendov-Mosanu A., Sturza R., Deleanu C., Chira N.-A. 2022. Saponification Value of Fats and Oils as Determined from 1H-NMR Data: The Case of Dairy Fats. *Foods*, 11, 1466.
4. De Marchi M., Penasa M., Zidi A., Manuelian C. L. 2018. Invited review: Use of infrared technologies for the assessment of dairy products—Applications and perspectives. *Journal of Dairy Science*, 101, 10589-10604.
5. Lei T., Sun D.-W. 2019. Developments of nondestructive techniques for evaluating quality attributes of cheeses: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 527-542.
6. Yakubu H. G., Kovacs Z., Toth T., Bazar G. 2022. Trends in artificial aroma sensing by means of electronic nose technologies to advance dairy production–a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63, 234-248.
7. Tsenkova R. 2009. Aquaphotomics: Dynamic Spectroscopy of Aqueous and Biological Systems Describes Peculiarities of Water. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 17, 303-313.
8. del Prato S. 1998. Trattato Di Tecnologia Casearia. Edagricole-New Business Media, 1070.

9. Parrini S., Crovetti A., Aquilani Ch., Nannucci L., Bozzi R. 2020. NIRS to assess chemical composition of sheep and goat cheese. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 23, 97-104.
10. González-Martín M. I., Vivar-Quintana A. M., Revilla I., Salvador-Esteban J. 2020. The determination of fatty acids in cheeses of variable composition (cow, ewe's, and goat) by means of near infrared spectroscopy. *Microchemical Journal*, 156, 104854.
11. McKenna D. 2001. Measuring Moisture in Cheese by Near Infrared Absorption Spectroscopy. *Journal of AOAC International*, 84, 623-628.

KONTAKTNÁ ADRESA

Ing. Lucia Benešová, PhD., Výskumné centrum AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovenská republika, lucia.benesova@uniag.sk

P2

Ultravzuk, sous-vide – vliv na senzorické a nutriční vlastnosti masa

Ultrasoud, sous-vide – influence on sensory and nutritional meat properties

Filip Beňo, Stanislav Vojtíšek, Rudolf Ševčík

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Kvalitativní charakteristiky (obsah vody, živin, textura, chuť, vůně, aroma a barva) masa jsou ovlivněny během celého procesu zpracování masa („*From farm to fork*“). Nedílnou součástí je pak samozřejmě také kulinární úprava, popřípadě metoda využitá před samotným kulinárním zpracováním. V této práci byl sledován vliv ultrazvuku (US) (33 kHz; 320 W; 10, 45, 90 a 180 min) a úprava sous-vide (SV) (55 °C; 2, 4, 6 a 12 hod) na texturu, vaznost, oxidaci tuků a senzorické vlastnosti vepřového boku. Pro vybrané hodnocení charakteristik následovalo také ošetření grilováním pomocí kontaktního grilu a vaření ve vodní lázni. US i SV významně zvýšilo křehkost ($p < 0,05$) a SV významně navýšilo ztráty, kdy došlo k přibližně 25% navýšení ($p < 0,05$) a postupně narůstaly s délkou působení daných ošetření. Také bych pozorován významný vliv UV na oxidaci tuků během skladování u vepřového boku. Ze senzorického hlediska byl pozitivní vliv zaznamenán jak u US, tak i u SV.

Klíčová slova: *kvalita masa, nutriční kvalita, ztráty vody, ultrazvuk, sous-vide, senzorická analýza*

SUMMARY

The qualitative characteristics (water content, nutrient content, texture, taste, aroma, flavour, and colour) of the meat are influenced throughout the meat processing process (“From farm to fork”). Of course, the culinary treatment, or the method used before the culinary treatment itself, is also an integral part of the process. In this work, the effect of ultrasound (US) (33 kHz; 320 W; 10, 45, 90, and 180 min) and sous-vide (SV) treatment (55 °C; 2, 4, 6, and 12 h) on texture, water holding capacity, fat oxidation, and sensory properties of pork flank was investigated. Grilling treatments using a contact grill and water bath cooking were also followed for selected characteristic evaluations. Both US and SV significantly increased tenderness ($p < 0.05$) and SV significantly increased losses, with approximately 25% increase ($p < 0.05$) and increasing progressively with the length of exposure to the treatments. I would also observe a significant effect of UV on fat oxidation during storage in pork flank. From a sensory point of view, a positive effect was observed for both US and SV.

Keywords*: meat quality, nutritional quality, water holding capacity, ultrasound, sous-vide, sensory analysis*

ÚVOD

Kvalita čerstvého masa je jeden z nejdůležitějších faktorů, které bere zákazník v potaz, pokud uvažuje o koupi daného kusu masa. Je možno ji popsat pomocí celé řady faktorů jako je vaznost vody, obsah nutričně významných látek a jejich dostupnost, mikrobiální stabilita, textura, chuť, vůně, barva apod. Tyto znaky kvality je možné ovlivnit v průběhu celého produkčního řetězce masa – od chovu zvířat, způsobu přepravy na jatka, použité metody omráčení, metody jatečného opracování, chlazení, distribuci a dalšími technologickými opracováními. Masný průmysl v současnosti věnuje velkou pozornost výzkumu nových metod, které povedou k bezpečnému a efektivnímu ošetření čerstvého masa a zároveň minimalizují dopady na nutriční a senzorickou kvalitu. Přestože je této problematice věnována řada odborných publikací, jejich výsledky jsou často velmi rozdílné [1, 2].

Termální ošetření masa

Mezi termální způsoby pro ošetření čerstvého masa je možné zahrnout velké množství procesů (např. konvenční záhřev, odporový, dielektrický, mikrovlnný a infračervený ohřev). Společným jmenovatelem všech těchto metod je změna vlastností masa vlivem dodání energie v podobě tepla. Tepelné metody jsou velmi často používány přímo pro zpracování masa ke konzumaci nebo konzervaci. Zároveň je možné v této skupině naleznout procesy, které jsou používané pro přípravu (ošetření) masa před dalším zpracováním. Termální způsoby pro ošetření masa nejsou ve srovnání s ostatními metodami příliš ekonomicky (z hlediska pořizovacích nákladů) náročné, jejich použití je jednoduché a v současnosti i poměrně rozšířené. Kromě tvorby chutnosti masa [3] však použití těchto metod přináší i svá jistá rizika, zejména reakce spojené s nežádoucími chemickými změnami v mase. Konkrétně se jedná o Maillardovu reakci, oxidaci tuků a bílkovin, snížení rozpustnosti bílkovin pojivové tkáně, denaturace bílkovin a tvorbu kontaminantů (např. heterocyklické aromatické aminy) [4].

Jednou z termálních často kulinárně využívaných metod je metoda sous-vide. Princip této metody je založen na pomalém (4 – 24 h) vaření vakuově zabalené potraviny (např. maso, zelenina, vejce) při kontrolovaných teplotách (65 – 95 °C), které ve výsledku vede k vyšší nutriční a senzorické kvalitě potraviny (ve srovnání s běžnými metody tepelného zpracování masa). Po takovéto úpravě následuje chladírenské skladování (0 – 4 °C) a před konzumací dané potraviny je často nutné provést další tepelnou úpravu (nejčastěji grilování, smažení a pečení). Relativně nízká teplota úpravy a délka záhřevu má za následek lepší křehkost a šťavnatost finálního výrobku. [5]. Chemické změny indukované použitím metody sous-vide jsou velmi podobné změnám, které nastanou při běžném (vaření, pečení, grilování) zpracování čerstvého masa. Rozdílem však je míra do, které tyto změny proběhnou. Při pohledu na nutriční kvalitu masa, tak použití sous-vide vede k zachování cenných mikronutrientů (vitamíny, minerály, nenasycené mastné kyseliny) a vody. Dále byl pozorován příznivý efekt této metody na míru (snížení) oxidace lipidů v mase. Důležité je v této části zmínit vliv času na nutriční kvalitu masa. V případě, že se metoda používá po příliš dlouho dobu, dochází naopak ke snížení kvalitativních vlastností masa. Pro zachování největšího množství nutričně cenných složek masa je tedy vhodné používat vyšší teploty (> 85 °C) a co nejkratší možné časy [6].

Netermální ošetření

V oblasti zpracování masa si získaly velkou oblibu netermální inovativní technologie, které nejenže zvyšují trvanlivost potravin, ale také zachovávají jejich kvalitu, například nutriční, čerstvé a senzorické vlastnosti. Tradiční metody tepelného zpracování, jako je odpařování, pasterizace, sušení, sterilizace, chlazení a zmrazování, jsou považovány za energeticky nejvýznamnější techniky v potravinářství. V posledních několika desetiletích se objevily různé netermální způsoby zpracování potravin, mezi které patří například ultrazvuk pulzní elektrické pole, studená plazma, mikrovlnné ošetření apod. Tyto netepelné úpravy ošetřují potraviny často ve velmi krátkém intervalu. Kromě jejich vlivu na snížení mikrobiální kontaminace a menším vlivu na nutriční hodnoty, lze tyto metody použít také jako předpřípravu masa pro jeho další kulinární úpravu [7, 8]. Další část textu bude zaměřena na využití ultrazvuku pro ošetření masa.

V ultrazvukovém systému se elektrická energie mění na vibrační mechanickou energii. Část vstupní energie se ztrácí přeměnou na teplo a zbytek může vyvolat kavitaci. Část kavitační energie vyvolává chemické, fyzikální nebo biologické účinky, zatímco ostatní části se odrážejí a spotřebovávají při opětovném vyzařování zvuku. Ultrazvuk se pohybuje v rozmezí 20 kHz až 10 MHz a dělí se do tří kategorií: i) s vysokou intenzitou (> 5 W/cm^2 nebo 10 – 1000 W/cm^2) a nízkou frekvencí (20 – 100 kHz); ii) se střední intenzitou a střední frekvencí (100 kHz – 1 MHz); a iii) s nízkou intenzitou (< 1 W/cm^2) a vysokou frekvencí (1 – 10 MHz). K aplikaci ultrazvuku na výrobky se používají tři různé metody: a) přímá aplikace; b) spojení se zařízením a c) ponoření do ultrazvukové lázně [9].

Při použití ultrazvuku během ošetření masa dochází ke kavitaci ve zpracovávané svalovině, čímž dochází k mechanickému poškození myofibrilárních struktur, fragmentaci makromolekul kolagenu a dalších látek. Takto poškozené bílkoviny podstupují rychlejší a intenzivnější proteolýzu, což má za výsledek maso, které je křehčí než maso neošetřené. Ultrazvuk je schopen změnit některé vlastnosti masa jako je změna složení (zejména snížení obsahu sodíku), změna funkčních vlastností bílkovin masa a schopnosti vázat vodu. Tohoto faktu je možno využít při přípravě masa pro následné zpracování. Z nutričního hlediska nese také velký význam schopnost ultrazvuku ovlivnit míru autooxidace tuků. Je spekulováno, že volné radikály, které vznikají působením kavitací, akcelerují průběh autooxidace tuků ve svalovině. Tím dochází k produkci toxických sloučenin (např. akrylaldehyd) a senzoricky nežádoucích látek (tzv. off-flavours). Budoucí aplikace ultrazvuku mohou poskytnout nové způsoby výroby potravin, které budou pro zákazníka bezpečnější a o vyšší nutriční a senzorické kvalitě [10, 11].

MATERIÁL A METODIKA

Použitý materiál

V rámci experimentální části bylo využito vepřové maso – vepřový bok s tukovým krytím. Vzorky byly nakoupeny v běžné tržní síti a před vlastním měřením byly skladovány v laboratorním termostatu ST2B40 basic (POL–LAB sp. k., Polsko) při teplotě 4,0 ± 0,5 °C s neřízenou cirkulací vzduchu. Vzorky masa (plátky o rozměrech přibližně 1,5 × 8 × 4 cm) byly ošetřeny v ultrazvukové vodní lázni.

Ošetření ultrazvukem

Vakuově zabalené vzorky (plátky o rozměrech přibližně 1,5 × 8 × 4 cm) v polyamidové fólii byly vloženy do ultrazvukové lázně Bandellin RK 100 H (Německo) za daných podmínek (frekvence 33 kHz, výkon ohřevu 140 W, ultrazvukový špičkový výkon 320 W) a následně ošetřeny po různou určenou dobu. V prvním případě bylo maso ošetřováno po dobu 10 minut, a to pro testování vlivu na oxidaci lipidů. Dále byl posouzen vliv působení US po dobu 45 minut na vybrané kvalitativní parametry (barva, textura, vaznost vody a senzorické hodnocení). V poslední části experimentu byl sledován vliv doby (45, 90 a 180 min) působení US na vaznost a texturu masa. Po ošetření byly vzorky rozbaleny, osušeny a zváženy.

Tepelné opracování – vaření, sous-vide, grilování

V první části byly vzorky po ošetření US (45 min) a SV (12 hod) ve vakuově zabalené fólii tepelně ošetřeny ve vodní lázni (10 min, 75 °C) (Memmert WNB10, Německo) pro stanovení ztrát vody (kap. 2.4). Ztráty vody byly v tomto případě stanoveny také u grilovaného masa. Grilování vzorků bylo provedeno v kontaktním grilu TEFAL GC712D34 Optigrill (Tefal Ltd., Francie) na stupeň médium. Pro stanovení barvy, textury, míry žluknutí a pro senzorické hodnocení byly vzorky ugrilovány stejným způsobem.

Druhá část byla zaměřena na vliv délky působení US a SV, kdy byly vzorky opět vakuově zabaleny a ošetřeny. V případě SV byly vzorky vloženy do holdomatu Moduline CSC031E a ošetřeny při teplotě 55 °C po dobu 2, 4, 6 a 12 hod. Ošetření US probíhalo také u vakuově zabalených vzorků, a to po dobu 45, 90 a 180 min.

Ztráty vody

Ztráta vody masa (neošetřené maso, US, SV a US +SV) byly zjištěny gravimetricky jako procentuální úbytek váhy dle vztahu (1), kde W – hmotnostní úbytek [%], m_1 – hmotnost masa před ošetřením [g] a m_2 – hmotnost masa po ošetření [g].

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \cdot 100 \qquad (1)$$

Úroveň žluknutí

Míra žluknutí byla stanovena pomocí stanovení obsahu malondialdehydu (MDA) [mg/kg] u vzorků skladovaných ve vakuu v termostatu při teplotě 4,0 ± 0,5 °C za neustálého osvětlení pomocí LED lamp. Ošetřené vzorky byly homogenizovány a ze získaného homogenitu bylo odváženo přibližně 10 g do destilační zkumavky. Dále do destilační zkumavky bylo přidáno 97,5 ml destilované vody a 2,5 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové (2:1, voda:HCl). Před zahájením destilace byla jednotka předehřáta a promyta demineralizovanou vodou (promytí bylo také provedeno mezi destilacemi jednotlivých skupin vzorků). Následně byla de stilační zkumavka vložena do destilační jednotky BÜCHI K-355 (BÜCH Labortechnik AG, Švýcarsko) a po dobu 10 minut (úroveň páry 30 %) bylo nadestilováno zhruba 50 ml destilátu. Ze získaného destilátu bylo odpipetováno 5 ml do varné zkumavky se zábrusem. K destilátu bylo přidáno 5 mL 0,02M 2-thiobarbiturové kyseliny (rozpuštěná v 99% kyselině octové). Takto připravená směs byla vařena v digestoři po dobu 35 minut a následně 10 minut chlazena. Po dostatečném ochlazení zkumavek byla proměřena

absorbance na spektrofotometru Onda V-10plus (Giorgio Bormac S.r.l., Itálie) při vlnové délce 538 nm. Koncentrace MDA byla vypočítána dle vztahu (2), kde c_{MDA} – koncentrace malondialdehydu [mg/kg], A – naměřená absorbance roztoku, m_V – hmotnost navážky vzorku [g] a m_D – hmotnost destilátu [g].

$$c_{MDA} = 7{,}8 \cdot A \cdot \frac{m_V \cdot m_D}{10 \cdot 50} \qquad (2)$$

Barva a textura

Změna barvy před/po ošetření byla stanovena metodou reflexní spektrofotometrie a textura byla stanovena instrumentálně pomocí stanovení maximální střižné síly (WBSF) [12].

Senzorická analýza

Vakuově zabalené vzorky vepřového masa byly rozděleny do 4 skupiny podle různého způsobu ošetření (Neošetřené maso, Ošetření metodou sous-vide, ošetření ultrazvukem a kombinace Sous-vide a ultrazvuku). Po provedení vybraného ošetření byly vzorky masa tepelně opracovány na kontaktním grilu po dobu 5 minut. Následovalo senzorické hodnocení takto upraveného masa, kde došlo ke srovnání pěti vybraných parametrů – barva, vůně, chuť, šťavnatost a textura. K hodnocení bylo vybráno deset náhodných, neškolených osob. Vzorky byly hodnoceny na stupnici od 1 do 10 (kde 1 – nejhorší 10 – nejlepší) a získané výsledky byly zpracovány a vyhodnoceny.

Statistické zpracování dat

Naměřená data byla nejprve zpracována v programu MS Excel. Všechny získané hodnoty byly prvně podrobeny Dean-Dixonovu testu pro vyloučení extrémních (odlehlých) hodnot. Po provedení Dean-Dixonova testu byl pro zbylé hodnoty vypočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka (Mean ± SD). Pro statistické hodnocení vlivu různých ne/termálních ošetření na kuřecí a vepřové maso byl využit HSD Tukey test v návaznosti na provedenoý test one-way ANOVA v programu STATISTICA 12.0 CZ (StatSoft, Praha, Česká republika). Hladina významnosti byla ve všech případech nastavena na $\alpha = 0{,}05$.

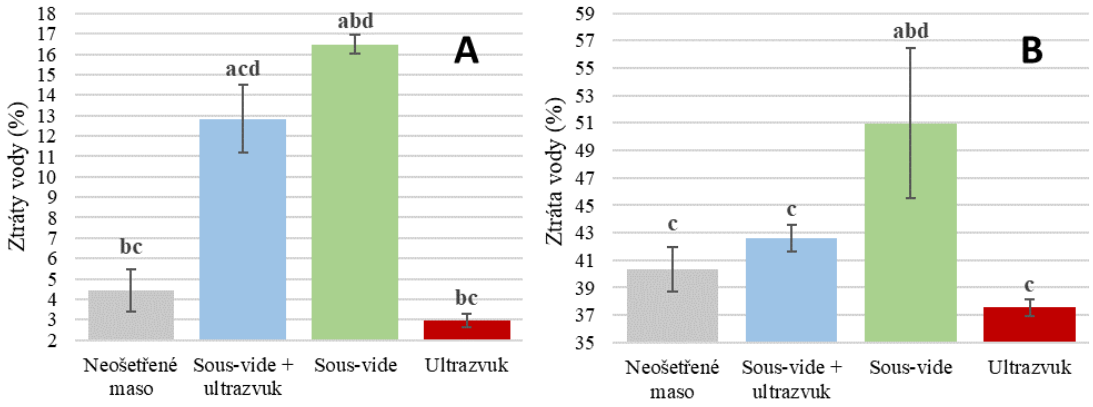
VÝSLEDKY A DISKUZE

Ztráty vody

V první části experimentu byl testován vliv ztráty vody po různých metodách ošetření masa – SV (12 hod) + US (45 min), SV (12 hod), US (45 min). Vypočítané ztráty vody jsou vyneseny do Obrázků 5 a 6. Ztráty vody byly vypočítané jak u syrového, tak i u tepelně opracovaného (grilovaného) masa a výsledky můžeme vidět na Obrázku 1.

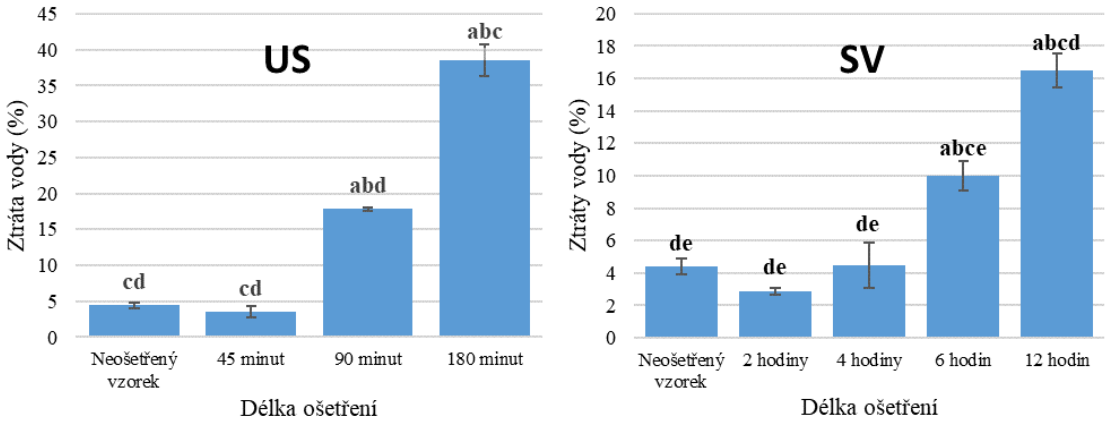
Ve srovnání s kontrolními vzorky byly nejvýznamnější ztráty vody zaznamenány v případě masa ošetřeného pomocí SV metody ve srovnání s neošetřenými vzorky ($p < 0{,}05$), a to jak u syrového, tak i u grilovaného masa. Vyšší ztráty oproti kontrolním vzorkům můžeme vidět také u kombinace SV + US, avšak u grilovaného masa toto navýšení nebylo významné ($p > 0{,}05$). Ztráty vody jsou v případě termálních metod (včetně SV) způsobené denaturací bílkovin, a tak dochází ke zhoršení schopnosti masa vázat vodu. Samotná metoda sous-vide (bez dalšího grilování) je poměrně šetrná metoda, která ve srovnání s běžnými způsoby

tepelného ošetření vykazuje menší dopady na kvalitu [5]. V našem případě se však jednalo o 12 hod ošetření, což mělo zřejmě za následné výrazné snížení vaznosti bílkovin. Naopak maso, které bylo ošetřené pouze pomocí US, mělo ztráty vody nižší, z čehož můžeme říci, že se jedná o šetrnou metodu ošetření, která vede k eliminaci ztrát vody po další tepelné úpravě. Toto tvrzení se neshoduje například s výsledky Gómez-Salazar et al. (2018), které naopak poukazují na negativní vliv US na vaznost masa. V těchto studiích byly nastavené jiné podmínky US ošetření (např. 40 kHz, 110 W). Naopak studie Peña-González et al. (2017) se s výsledky této práce shoduje. Vyšší vaznost masa po US může být vysvětlena strukturními změnami myofibrilárních bílkovin. Rozsah těchto změn závisí na druhu masa, které je použito, charakteristických podmínek ošetření (frekvence, čas, výkon, teplota) a biochemických faktorů v mase [13, 14].



Obrázek 1: Ztráty vody u negrilovaného (A) a grilovaného (B) masa; indexy a-d ($p < 0,05$)

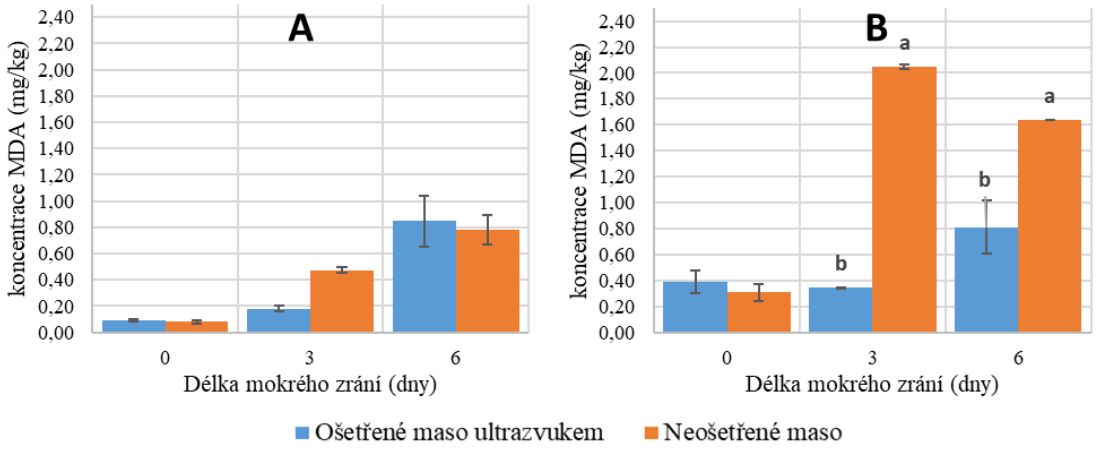
S rostoucí délkou působení US a SV postupně vaznost masa klesala ($p < 0,05$), resp. ztráty vody v čase narůstaly, jak můžeme vidět na Obrázku 2. S rostoucí dobou ošetření převažuje tepelný účinek nad mechanickým účinkem ultrazvuku. S intenzivnější mírou denaturace posléze dochází k násobně vyšším ztrátám vody. Stejný narůst bylo taktéž možné pozorovat u metody sous-vide, kde delší dobou ošetření docházelo k vyšším ztrátám vody.



Obrázek 2: Vliv délky působení US a SV na ztráty vody masa (negrilovaného); indexy a-e ($p < 0,05$)

Míra oxidace tuků, barva masa a textura

U vepřového masa (před i po grilování) byl stanoven obsah MDA v průběhu skladování (zrání) u neošetřeného a US (10 min). Obsah MDA u vzorků můžeme vidět na Obrázku 3. Významné rozdíly obsahu MDA můžeme pozorovat pouze u grilovaného masa, kdy byl obsah MDA výrazně nižší 3. a 6. den skladování ($p < 0,05$). Nižší hodnotu TBARS zjistili také Araújo et al. (2022) s podobným nastavením US (35 kHz, 170 W, 10 minut) u syrového masa [15].

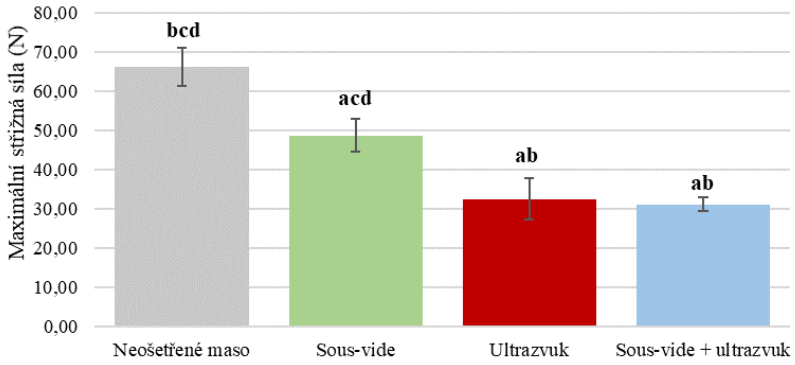


Obrázek 3: Vliv US na míru oxidace syrového (A) a grilovaného (B) masa; indexy a-b ($p < 0,05$)

Dále byla u vzorků masa měřena barva. Pomocí znalostí hodnot L^* (světlost), a^* (červenost) a b^* (žlutost) byl vypočítán koeficient barevné změny ΔE^*_{ab}, který nám říká, jak moc se barva liší mezi jednotlivými vzorky [12]. Hodnoty ΔE^*_{ab} i s vnímáním barevné změny jsou uvedeny v Tabulce 1. Jak se dalo očekávat, tak k výrazné barevné změně došlo u všech vzorků po všech ošetřeních, barevný rozdíl nebyl pozorován pouze mezi metodou SV a US+SV. SV vykazovalo opět nejvýraznější změny oproti kontrolním vzorkům, důvodem bylo výrazné zvýšení světlosti L^* a snížení červenosti a^*, což může být spotřebitelem vnímáno negativně. Tyto rozdíly však přestávají být patrné při tepelném ošetření masa, proto maso ošetřené kombinací US+SV nevykazovalo rozdíly oproti masu, které bylo opracováno pouze pomocí metody SV.

Tabulka 1: ΔE^*ab; (K – neošetřené maso, SV – sous-vide, US –ultrazvuk, US+SV – ultrazvuk a sous-vide)

Vzorky	ΔE^*_{ab}	Vnímání barevné změny
K × SV	19,05	Barvy jsou podobnější jejich opaku
K × US	6,42	Postřehnutelná na první pohled
K × US+SV	18,05	Barvy jsou podobnější jejich opaku
SV × US	12,98	Barvy jsou podobnější jejich opaku
SV × US+SV	1,04	Postřehnutelná při bližším zkoumání
US × US+SV	12,03	Barvy jsou podobnější jejich opaku



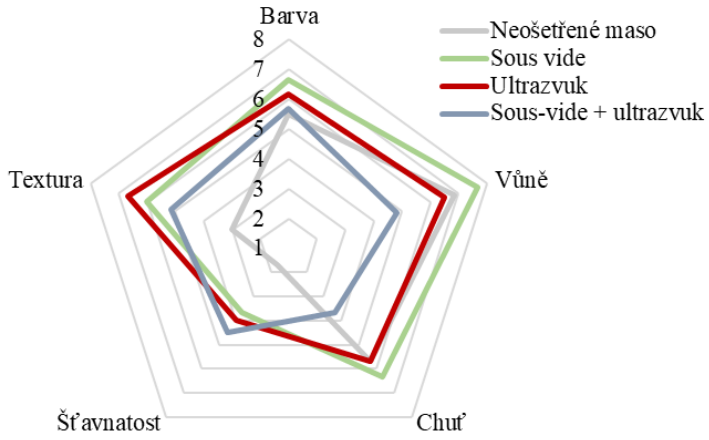
Obrázek 3: Vliv ošetření na křehkost grilovaného masa; indexy a-d ($p < 0,05$)

Všechny metody ošetření masa pomocí zvýšily křehkost masa ($p < 0,05$) ve srovnání s neošetřeným vzorkem. Nejvýraznější pokles střižné síly byl naměřen u kombinace SV+US, kdy došlo přibližně o 50% snížení střižní síly. Rozdíl křehkosti u US masa byl prakticky totožný s kombinací US+SV. Zvýšení křehkosti masa patří mezi nejvýznamnější důvody pro použití ultrazvuku při zpracování masa, a také se také jedná o jeden z nejlépe popsaných účinků ultrazvuku na maso. Četné výzkumy z posledních let podávají výsledky pro ošetření za různých podmínek – od odlišných délek ošetření (od 30 sekund až po 90 minut), frekvence (15-130 kHz) intenzit (1,89 – 64 W/cm2) a různých podmínek skladování/zrání. Ve většině těchto studií panuje shoda, že použití ultrazvuku zvyšuje výslednou křehkost masa [14, 16, 17].

Příprava masa metodou SV je schopná způsobit ve svalovině celou řadu fyzikální a chemických změn (podobně jako další termální procesy) včetně změn textury. Tenderizace masa pomocí této metody je zejména založena na zeslabení perimysia (vazivový obal obklopující svalová vlákna). Takto ošetřené maso dosahuje lepších hodnot z hlediska křehkosti a také šťavnatosti [18].

Senzorická analýza

Ze všech skupin vzorků byly nejlépe hodnoceny vzorky ošetřené US a vzorky ošetřené pouze metodou SV (Obrázek 4). Nejhorších výsledků dosahovalo neošetřené maso a v některých kategoriích bylo možné za nejhorší označit kombinaci US+SV. Ošetření US přineslo v této kategorii celou řadu zajímavých výsledků. V oblasti barvy, textury a šťavnatosti (ztráty vody) bylo možné srovnat senzorické hodnocení s výsledky z instrumentálních metod. Textura masa, které bylo ošetřeno ultrazvukem, dosahovala nejlepšího hodnocení ($p < 0,05$) ze všech možných metod. Pozitivních vliv ($p < 0,05$) na texturu masa byl také pozorován u ošetření využívajících metodu SV. Při srovnání s instrumentálními metodami, byl potvrzen kladný účinek všech druhů ošetření na křehkost masa. Chuť a vůně vzorků vepřového masa si byly ve většině případů ($p > 0,05$) podobné. Konkrétně chuť neošetřeného masa a vzorků, které byly samostatně ošetřeny US, nebo SV byla na velmi podobné úrovni. US je proto možné použít pro zlepšení vlastností masa a zároveň zachovat chuť a vůni co nejvíce podobnou masu neošetřenému [9, 18].



Obrázek 4: Senzorická analýza ne/ošetřeného masa

ZÁVĚR

V případě tohoto experimentu byl potvrzen zejména pozitivní vliv ultrazvuku, sous-vide a jejich kombinace na křehkost masa ve srovnání s neošetřenými vzorky, což je u zákazníka pozitivně vnímaný parametr. Vyšší křehkost masa byla potvrzena jak instrumentálně, tak i pomocí senzorické analýzy. Jako nejlepší metodou z našich výsledků vyplývá metoda ošetření pomocí ultrazvuku, kdy kromě zvýšení křehkosti došlo i k nejmenším ztrátám vody po následném tepelném ošetření. Kromě toho byl i u masa po ošetření ultrazvukem zjištěn nejnižší obsah malondialdehydu, jakožto ukazatele míry žluknutí tuků. Volba správného technologického zpracování je tak naprosto kritická pro zachování vysoké kvality masa. Nevhodně zvolený způsob ošetření může zásadním způsobem vést ke snížení nutriční a senzorické kvality masa.

PODĚKOVÁNÍ

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A1_FPBT_2023_004.

LITERATURA

1. Arroyo C., Eslami, S., Brunton, N.P., Arimi, JM., Noci, F., Lyng, J.G. 2015. An assessment of the impact of pulsed electric fields processing factors on oxidation, color, texture, and sensory attributes of turkey breast meat. *Poultry Science*, 94, 1088-1095.
2. Ishiwatari N., Fukuoka, M., Sakai, N. 2013. Effect of protein denaturation degree on texture and water state of cooked meat. *Journal of Food Engineering*, 117, 361-369.
3. Dashdorj D., Amna T., Hwang I. 2015. Influence of specific taste-active components on meat flavor as affected by intrinsic and extrinsic factors: an overview. *European Food Research and Technology*, 241, 157-171.
4. Pereira A.L.F., Kelly V., Abreu G. 2018. *Lipid Peroxidation in Meat and Meat Products*, 978-1-83968-548-4.
5. Ayub H., Ahmad A. 2019. Physiochemical changes in sous-vide and conventionally cooked meat. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 17, 100145.
6. Wang S., Chang M.H., Chen T.C. 2004. Shelf-life and Microbiological Profiler of Chicken Wing Products Following Sous vide Treatment. *International Journal of Poultry Science*, 3, 326-332.

7. Choudhary R., Bandla S. 2012. Ultraviolet Pasteurization for Food Industry. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*, 2, 12-15.
8. Thirumdas R., Sarangapani Ch., Annapure U.S. 2015. Cold Plasma: A novel Non-Thermal Technology for Food Processing. *Food Biophysics*, 10, 1-11.
9. Alarcon-Rojo A.D., Carrillo-Lopez L.M., Reyes-Villagrana R., Huerta-Jiménez M., Garcia-Galacia I.A. 2019. *Ultrasonics Sonochemistry*, 55, 369-382.
10. Turantaş F., Kılıç G.B., Kılıç B. 2015 Ultrasound in the meat industry: General applications and decontamination efficiency. *International Journal of Food Microbiology*, 198, 59-69.
11. Beňo F., Škorpilová T., Pohůnek V., Podskalská T., Mrlík M., Tobolková A., Ševčík R. 2023. Effect of pulsed electric field treatment on beef cuts properties: Tenderness, colour, drip loss, pH, electrical conductivity, water activity, cooking losses, drying. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 89, 103482.
12. Gómez-Salazar J.A., Ochoa-Montes D.A., Cerón-García A., Ozuna C., Sosa-Morales M.E. 2018. Effect of acid marination assisted by power ultrasound on the quality of rabbit meat. *Journal of Food Quality*, 2018, 1-6.
13. Peña-González E., Alarcón-Rojo A., Rentería A., Garcia I., Santellano E., Quintero A., Luna L. 2017. Quality and sensory profile of ultrasound-treated beef. *Italian Journal of Food Science*, 29, 463-475.
14. Araújo C.D.L.d, Silva G.F.G.d, Almeida J.L.S.d et al. 2022 Use of ultrasound and acerola (*Malpighia emarginata*) residue extract tenderness and lipid oxidation of pork meat. *Food Science and Technology*, 42, e66321.
15. Yeung C.K., Huang S.C. 2017. Effects of Ultrasound Pretreatment and Ageing Processing on Quality and Tenderness of Pork Loin. *Journal of Food and Nutrition Research*, 5, 809-816.
16. Xiong G.Y, Zhang L.L., Zhang W., Wu J. 2012. Influence of ultrasound and proteolytic enzyme inhibitors on muscle degradation, tenderness, and cooking loss of hens during aging. *Czech Journal of Food Sciences*, 30, 195-205.
17. Naqvi Z.B., Thomson P.C., Ha M., Campbell M.A., McGill D.M., Friend M.A., Warner R.D. 2021. Effect of sous vide cooking and ageing on tenderness and water-holding capacity of low-value beef muscles from young and older animals. *Meat Science*, 175, 108435.
18. Yeung C.K., Huang S.C. 2017. Effects of Ultrasound Pretreatment and Ageing Processing on Quality and Tenderness of Pork Loin. *Journal of Food and Nutrition Research*, 5, 809-816.

P3

Comparison of three different methods for the determination of sulphur dioxide in fruit and vegetable products

Porovnání tří různých metod stanovení oxidu siřičitého v ovoci a zelenině

Novel Kishor Bhujel[1], Tereza Podskalská[1], Kshitiz Pokhrel[2], Vojtěch Kružík[1], Helena Čížková[1]

[1] Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice
[2] Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha – Suchdol

ABSTRACT

Sulphite is a global food ingredient. Sulphite compounds above 10 $mg \cdot kg^{-1}$ must be marked as sulphur dioxide (SO_2) on packaging due to health hazards. This study compares Spectrophotometric, Titration (Optimised Monier-Williams), Reflectometric, and Test Strip methods for assessing sulphur dioxide in 20 fruit and vegetable products. Samples include sulphited, unsulphited, and naturally sulphur-containing garlic and onion. Results demonstrate the method's pros and cons. False-positive results were observed in Allium genus samples, particularly fresh garlic, with average SO_2 concentrations of 46 $mg \cdot kg^{-1}$, 1152 $mg \cdot kg^{-1}$, and 40 $mg \cdot kg^{-1}$ using Spectrophotometric, Titration, and Reflectometric strip methods. Therefore, these methods are not suitable for testing these vegetables or products with a low proportion of them. For other samples, the approaches worked well. Recovery tests for Spectrophotometric, Titration, and Reflectometric techniques yielded 89.5%, 82.0%, and 75.2% recovery, with 2.8%, 3.9%, and 13.2% repeatability and limits of quantification of 1 $mg \cdot kg^{-1}$, 10 $mg \cdot kg^{-1}$, and 25 $mg \cdot kg^{-1}$ The finding emphasises sample characteristics and regulatory compliance in method selection.

Keywords: *sulphur dioxide, fruit, vegetable, determination*

INTRODUCTION

Sulphites are regulated globally as food additives. They have many uses due to their versatility. Due to their affordability and potency, synthetic chemical preservatives are widely used in food. Recently, customers have been concerned about the health risks of several synthetic preservatives. People with respiratory sensitivities focus more on fresh fruits and vegetables due to their perceived health benefits and nutritional value (Baselice et al. 2017). Sulphur dioxide (SO_2) and sulphites, classified as food additives E220 to E228, are used in food as sodium sulphite, calcium sulphite, sodium bisulphite, potassium bisulphite, sodium metabisulphite, and potassium metabisulphite. Robbins et al. (2016) state that these compounds suppress enzymatic and non-enzymatic browning in the food industry as antimicrobials,

bleaching agents, and reducing agents. Sulphites' antioxidant qualities are used to preserve dried fruits and fermented drinks (Gunther et al. 1998). Preservatives are added to fruit and vegetable juices at a concentration of up to 50 $mg \cdot kg^{-1}$ to block mould and yeast growth and discolouration. (2018 Codex-Alimentarius). The early 1980s saw cases of highly sensitive people having severe allergic reactions to sulphite-treated food. In 2011, the European Commission mandated the inclusion of sulphite content (measured as SO_2) on product packaging, with permissible quantities based on food items in Annex II or component incorporation in Annex III of EU regulation No 1130/2008. The allowed amount ranges from 10 mg/kg^{-1} (e.g., table grapes) to 10,000 mg/kg^{-1} (solid papain) (Garcia-Fuentes et al. 2015).

Sulphur compounds are naturally present in plants and certain foods as a defensive mechanism. These chemicals are antioxidant, antibacterial, anticancer, and health-promoting (Rao et al. 2005). Sulphur compounds are formed by plants by uptake from soil sulphate ions which are essential compounds for plant health and growth. These are glucosinolates, alliin, thiosulfinates, and sulfoxides (Petropoulos et al. 2017). No evidence suggests raw materials include sulphur dioxide and sulphites. Optimised Monier-William's method for sulphite detection has been found to give inaccurate positive results when applied to Allium (garlic, onions, etc.) and Brassica (cabbage, mustard, etc.) vegetables (Robbins et al. 2016).

Allium plants including garlic, onions, and leeks are known for their natural thiosulfinates (Iberl et al. 1990). Compounds in Allium vegetables give them their distinctive smell and taste. Thiosulfinates may accelerate alliin-to-allicin conversion by interacting with alliinase. Allicin decomposes and releases sulphur compounds, including SO_2, when mechanically damaged or processed (Mochizuki et al. 1997). According to Lafeuille et al. (2007), allicin creates a lot of SO_2 at pH values below 2.4 and boiling water temperatures, resulting in false positives. Brassica plants like cabbage, mustard, and onion contain glycosinolates. Disrupted tissue degrades glucosinolate enzymatically, creating glucose and sulphate as intermediary metabolites. By rearrangement, these compounds can generate isothiocyanate, nitrile, or thiocyanate derivatives. The initial glucosinolate side chain and breakdown circumstances determine the derivative (Betz et al. 1990; Holst B. et al. 2003).

Extraction conditions may liberate endogenous sulphur compounds, generating SO_2 production (Robbins et al. 2016). Robbins et al. (2016) and Kim et al. (2000) explored different foods using different methodologies. See Table 1. These fruits and vegetables are used in products, therefore regulatory assessments must minimise false positives. The authors are unaware of any studies on false-positive responses in other vegetable types or methods. HPLC with fluorometric detection was utilised by Chung et al. (2008) to assess matrix-induced false positives. They tested three Brassica samples but not Allium species, where false positives are common. This study investigates the false positives induced by three methods in an Allium species due to literature discrepancies.

Table 1: False-positive results of sulphur dioxide in various sulphur-rich plants by different methods Robbins et al. (2016) and Kim et al. (2000)

Name of plants	Method	Sulphur dioxide [mg·kg^{-1}]
Brassica vegetables	Optimised Monier–Williams (OMW)	1.4 to 12.6
Allium vegetables		17.4 to 86.5
Allium vegetables	Ion Chromatography	2.1 to 15.4
Brassica vegetables	OMW gravimetric	6.5 to 11.8
Allium vegetables		15.5 to 84.3
Allium vegetables	Modified Rankine method	2.9 to 6.1
Brassica vegetables	Double bubbler Monier–Williams	< 10
Allium vegetables		< 10
Brassica vegetables	LC-MS/MS	1.4 to 3.9
Allium vegetables		16.3 to 35.2

MATERIAL AND METHODOLOGY

Material

A total of 20 samples of various foods are listed in Table 2, five samples labelled as sulphited, 10 challenging samples and five unsulphited were collected from stores and local markets. The samples were gently peeled and rinsed with distilled water to remove any remaining dust from the surface, wiped to remove surface water, placed in a Retsch GM 200 homogeniser, and run for about 15 to 20 seconds at 41.7 Hz until homogenised and analysis was performed in duplicate.

Table 2: Sample list ('*' samples declared as sulphited)

Sample	Name	Geographical origin
Dried fruit 1*	Papaya	Thailand
Dried fruit 2*	Pineapple	Thailand
Dried fruit 3*	Raisin	USA
Dried fruit 4*	Raisin	Chile
Dried fruit 5*	Apricot	Not known
Dried fruit 6	Raisin	Germany
Dried fruit 7	Raisin	Turkey
Dried fruit 8	Bio Raisin	Turkey
Dried fruit 9	Cranberry	Canada
Dried fruit 10	Cranberry	USA
Garlic 1	Bio garlic	Italy
Garlic 2	Bio garlic	Spain
Garlic 3	Garlic	Unknown
Garlic 4	Garlic	Czech
Garlic 5	Powder garlic	Czech
Onion 1	Shallot	France
Onion 2	Yellow onion	Netherland
Onion 3	Yellow onion (bio)	Czech
Onion 4	Shallot	Czech
Onion 5	Red onion	Czech

Method

Titration (Optimized Monier-Williams) method

Analysis was based on ČSN EN 1988-1 (560025) with some adjustments. In the double-neck round-bottom flask, 350 ml distilled water and 20 ml 35% HCl are added to the sample. The flask is then placed in the heating mantle and two bubbling devices with 10 ml of 3% H_2O_2 are added. In an acidic state, the sample boils for 30 minutes, releasing SO_2, which is carried with nitrogen gas and combines with H_2O_2 in two bubbling devices to generate sulphuric acid. Titration against a diluted 0.05M sodium hydroxide (NaOH) solution with three drops of bromophenol blue measures acid generation.

Spectrophotometric method

The study approach was principally conducted by Davídek et al. (1981). The distillation machine BŰCHI K-355 was set to 50% steam and 14 minutes 30 seconds duration. Samples are weighed into a beaker and distilled water (40 ml) is homogenised by ultraturax and transferred to a distillation tube. 4M NaOH (10 ml) is then added, and after 5 minutes, 20 ml of 25% phosphoric acid (H_3PO_4) is added. Blank is made by adding 50 ml water, 10 ml 4M NaOH, and 20 ml 25% H_3PO_4 to a distillation tube. Before distillation, 25 ml of 0.16M NaOH is introduced to a 250 ml volumetric flask on the receiving side. After distillation, fill the flask to the mark with distilled water and dilute the distillate sample to the prejudged concentration. After pipetting a 10 ml sample solution into a test tube, 2 ml of pararosaniline and 0.2% formaldehyde are added. After 30 minutes, absorbance (560 nm) is measured. Six concentrations (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mg·kg-1) are calibrated using a 10 $mg \cdot kg^{-1}$ reference solution of SO_2 for quantifying.

Reflectometric method

Sulphite ions were measured using RQflex® 20 Reflectoquant®, Test strip reflectometer (10-200 $mg \cdot l^{-1}$) technique (Test for determination of sulfites). Reflectometric sampling involves distinct preparation for the raw material and dried product. For dry product, 50 ml of 0.01M NaOH is added to the homogenised sample and gently shaken for five minutes. 1M NaOH solution used to maintain pH between 9 and 11. For the raw material, 25 ml of 0.01 M NaOH are mixed with 25 g crushed sample and 25 ml distilled water. Allow the sample to settle, centrifuge (if needed), and analyze the supernatant. The reflectometer is started, and the test strip is immersed in the sample for two seconds to cover both response zones. After 30 seconds, the strips are put into the reflectometer for inspection and automatic saving ($mg \cdot l^{-1}$).

RESULTS AND DISCUSSION

Analytical assurance

Spectrophotometric, Titration and Reflectometric techniques had LODs of 1 $mg \cdot kg^{-1}$, 2 $mg \cdot kg^{-1}$, and 10 $mg \cdot kg^{-1}$, and LOQs of 1 $mg \cdot kg^{-1}$, 10 $mg \cdot kg^{-1}$, and 25 $mg \cdot kg^{-1}$, respectively. The reactivity of added sulphite causes a large amount to become irreversibly connected with the food matrix, making its use in recovery studies unsuitable. To prove proficiency, water recovery research was done. For the recovery test, all techniques employed 100 $mg \cdot kg^{-1}$ and 10 $mg \cdot kg^{-1}$

sodium metabisulphite ($Na_2S_2O_5$) concentrations. The recovery analysis for 100 mg·kg^{-1} and 10 mg·kg^{-1} yielded 89.5% and 85.3%, 82.0 % and 84.7%, and 75.2% and below the detection limit for Spectrophotometric, Titration, and Reflectometric methods. The spectrophotometric approach showed 2.8% repeatability across five replicate samples (RSD), Titration method 3.9%, and Reflectometric method 13.2% at 100 mg·kg^{-1} ($Na_2S_2O_5$). This study showed the accuracy of food matrix analysis.

Due to the different functionalities and restrictions of methods, we have created two different categories to test out the efficiency of the methods which are dry food samples (unsulphited and sulphited samples), and challenging samples (garlic and onions).

Table 3: Representation of measured sulphur dioxide concentration in the food sample ('*' samples declared as sulphited)

Sample name		Titration method c [mg·kg^{-1}]	Spectrophotometric method c [mg·kg^{-1}]	Reflectometric method c [mg·kg^{-1}]
Dry fruit 1*	Papaya	6.0 ± 0.5	5.9 ± 0.2	
Dry fruit 2*	Pineapple	7.7 ± 0.5	7.1 ± 0.5	
Dry fruit 3*	Raisin 4	116.7 ± 0.9	142.0 ± 11.3	119.9 ± 7.1
Dry fruit 4*	Raisin 5	338.6 ± 7.9	368.6 ± 15.8	172.3 ± 11.2
Dry fruit 5*	Apricot	349.4 ± 6.0	431.5 ± 11.8	
Dry fruit 6	Raisin 1	< LOD	< LOD	< LOQ
Dry fruit 7	Raisin 2	< LOD	< LOD	
Dry fruit 8	Raisin 3	< LOD	< LOD	< LOQ
Dry fruit 9	Cranberry	< LOD	< LOD	80.2 ± 7.6
Dry fruit 10	Cranberry	< LOD	< LOD	
Garlic 1	Bio garlic	48.9 ± 7.1	1064.8 ± 41.7	54.1 ± 10.7
Garlic 2	Bio garlic	29.7 ± 2.7	662.5 ± 37.0	26.2 ± 2.4
Garlic 3	Garlic	56.1 ± 5.0	1517.2 ± 54.4	
Garlic 4	Garlic	50.0 ± 2.2	1363.9 ± 63.8	
Garlic 5	Powder garlic	73.5 ± 5.5	1398.8 ± 79.0	
Onion 1	Shallot	7.5 ± 0.7	52.5 ± 3.2	35.5 ± 6.7
Onion 2	Yellow onion	7.4 ± 0.7	10.4 ± 0.7	< LOQ
Onion 3	Yellow onion (bio)	10.1 ± 1.6	271.2 ± 0.6	
Onion 4	Shallot	10.2 ± 1.0	289.9 ±0.8	
Onion 5	Red onion	8.0 ± 0.4	301.8 ± 22.1	

Table 3 shows the method used to measure sulphur dioxides in 20 samples. We opted not to use the Reflectometric approach for our future study due to its limitations and reduced yield during sample analysis and false positive results in the unsulphited sample. Samples that are pigmented or leak colour during dilution may produce false positives because the measurement depends on the formation of colour on the strip. The sample's homogeneity or suspended particles in the test liquid can also alter the result. In our examination, unsulphited samples of dried fruit 1 (cranberry) showed sulphur-positive results (80.2 mg·kg^{-1}) due to

suspended particles and colour leaching. However, the reflectoquant method is inexpensive, fast, small, and easy to measure potato products like mash, fried, and dumplings and dried fruits like apricots and apples instantly.

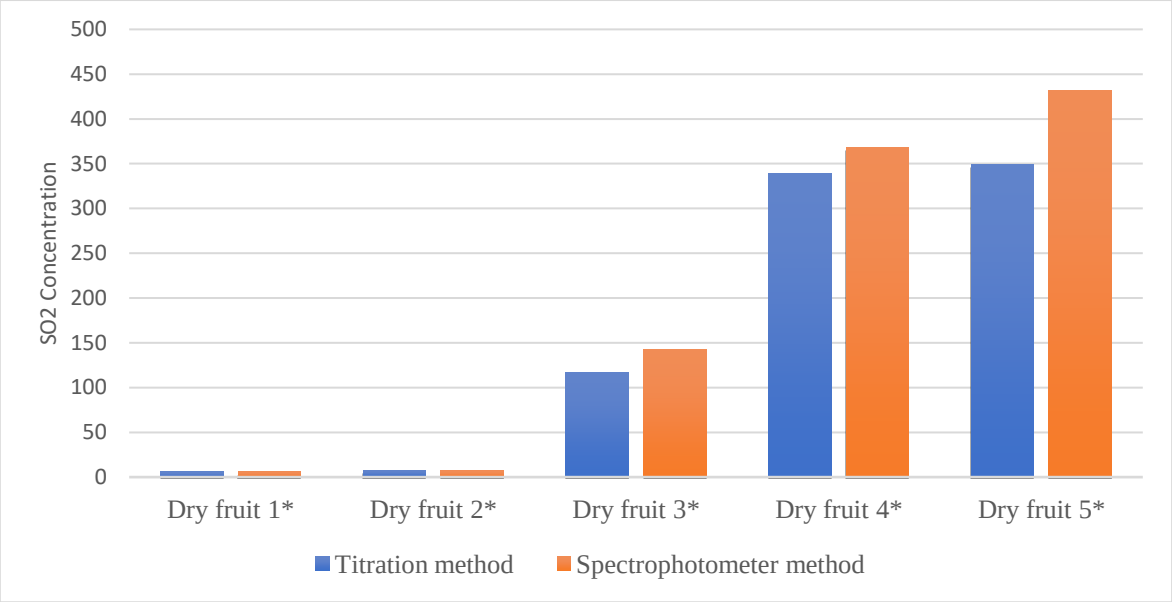


Figure 1: Bar graph of sulphited samples using two methods

Figure 1 shows two methods for testing sulphited fruit product concentrations. All samples showed SO_2 in both testing methods, with a correlation coefficient (R2) of 0.99 showing a strong positive linear association. The data shows that Spectrophotometry regularly measures concentrations 10% higher than Titration. The sample values fall below the permissible limit range of 50-2000 $mg.kg^{-1}$ (Commission Regulation (EU) No 1129/2011). SO_2 levels in samples ranged from 5.9 to 431.5 $mg{\cdot}kg^{-1}$ in Spectrophotometric and 6.0 to 349.4 $mg{\cdot}kg^{-1}$ in Titration techniques. Both methods failed to detect SO_2 in five unsulphited samples.

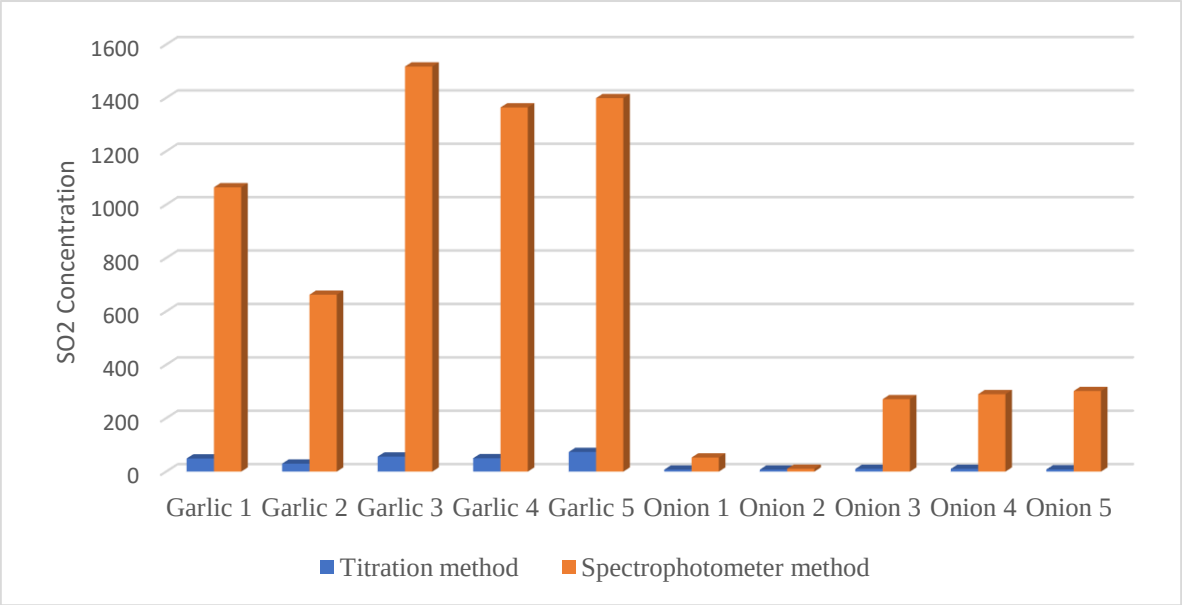


Figure 2: Bar graph representation of the challenging samples between Spectrophotometric and Titration methods

Figure 2 scattered plot is a challenging category because of false positives from Allium and Brassica vegetable genera. All samples show SO_2 in both testing methods. The data suggests the spectrophotometric approach consistently yields higher concentrations than titration. The two methods have a strong correlation coefficient (R2) of 0.94, which further complicates matters regarding regulatory enforcement.

The content of SO_2 in garlic ranges from 30 to 1517 $mg \cdot kg^{-1}$. Four garlic samples were above 1000 $mg \cdot kg^{-1}$ threshold, while one Spanish garlic sample measured 663 $mg \cdot kg^{-1}$ using the Spectrophotometric technique. In the Titration technique, all measured values were below 100 $mg \cdot kg^{-1}$, ranging from 30 to 74 $mg \cdot kg^{-1}$ for fresh garlic and garlic powder, with an average of 52 $mg \cdot kg^{-1}$. SO_2 concentrations of 90 $mg \cdot kg^{-1}$ and above 200 $mg \cdot kg^{-1}$ in garlic samples have been observed in the scientific literature using the Titration method (Robbins et al., 2016; Perfetti et al., 2003).

SO_2 content in onions is 7 to 302 $mg \cdot kg^{-1}$. Significantly, the Spectrophotometric approach provided a broader range of results, ranging from 10 to 302 $mg \cdot kg^{-1}$ for yellow and red onions, respectively. Conversely, Titration studies showed a restricted concentration range of 7-10 $mg \cdot kg^{-1}$ for yellow onion (NL) and salotka onion (CZ). Similarly, Robbins et al. (2016) found 10 $mg \cdot kg^{-1}$ SO_2 in onion samples. The Netherlands' yellow onion showed comparable SO_2 concentrations, with Spectrophotometric and Titration techniques achieving the lowest values of 10 and 7 $mg \cdot kg^{-1}$, respectively.

The Spectrophotometric approach is unsuitable for properly detecting SO_2 concentrations in samples, especially those containing endogenous sulphur compounds like garlic. False positives and concentration variations in Allium species are caused by extraction conditions and chemical interactions (Block 1985). According to Perfetti et al. (2003) and Lafeuille et al. (2007), the pH of the analytical condition and its interaction with garlic alliinase affect SO_2 production.

CONCLUSION

Reflectometric analysis is simple and fast due to its modest size, which makes it easy to handle and cost-effective. In contrast, this approach yields false positive results in coloured samples, even when they are free of sulphur. Titration is simpler than Spectrophotometry. Our approach is reliable and suitable for samples over 10 $mg \cdot kg^{-1}$ of SO_2, excluding those suspected of containing endogenous sulphur compounds. Detecting added sulphite in these samples is difficult to analyse. Expertise is needed to predict the titration endpoint, which is another drawback of this procedure. As a result, it may be difficult to estimate the recovery of a low-concentration spike in a low SO_2 sample. Using Spectrophotometric, Titration, and Reflectometric strip methods, we found an average SO_2 concentration of 46 $mg \cdot kg^{-1}$, 1152 $mg \cdot kg^{-1}$, and 40 $mg \cdot kg^{-1}$ in Allium genus samples.

Spectrophotometry takes 15 minutes for each sample, compared to 30 minutes of boiling at constant heat in Titration. This approach repeats and reproduces well. Analytically, this procedure is more flexible because we can dilute the concentration to our liking. This process is more sensitive than Reflectometric and Titration. This approach is unsuitable for allium and cruciferous materials containing endogenous sulphur. This method cannot be widely used for regulatory assessments without more research into more species and commercially sulphited items. The LC-MS/MS method for sulphite measurement has fewer false positives and greater recovery, according to Robbins et al. (2016). Once verified, these more precise and reliable methods should help meet worldwide sulphite rules more efficiently and reliably.

REFERENCE

1. Baselice A., Colantuoni F., Lass D.A., Nardone G., Stasi A. (2017): Trends in EU consumers' attitude towards fresh-cut fruit and vegetables. Food Quality and Preference, 59: 87-96.
2. Betz J. M., Page S. W. (1990): Liquid chromatographic method for the determination of intact, non-derivatized glucosinolates from Brassicaceae. Planta Medica, 56: 590-591.
3. Block E., (1985): The Chemistry of Garlic and Onions. 252: 114–118.
4. Caballero B., Trugo L., Finglas P. (2003): GLUCOSINOLATES, 2nd Ed. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, Academic Press: 2922-2930.
5. Codex-Alimentarius (2018): GSFA Online, Food Additive Group Details, Sulphites'. Available at https://www.fao.org/gsfaonline/additives/index.html (accessed 15 Nov 2023).
6. Chung SWC, Chan BTP, Chan ACM. Determination of free and reversibly-bound sulphite in selected foods by high-performance liquid chromatography with fluorometric detection. J AOAC Int. 2008; 91:98–102. [PubMed: 18376591].
7. ČSN EN 1988-1 (560025) Potraviny - Stanovení siřičitanu.
8. Davídek et al.: Laboratory Manual of Food Analysis II, 477- 8, 1981; Application note by Tecator, AN 61/83, AN 90/87.
9. European Commission. Regulation (EU) No 1333/2008 of the European Parlament and of the Council on Food Additives. Off J Eur Union [Internet]. 2008 ;(L354).Available:http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:295:0178:0204 :EN:PDF.
10. European Commission. Regulation (EU) No 1129/2011 amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by establishing a Union list of food additives. Available at https://ec.europa.eu/food/food-feed-portal/screen/food-additives/search/details/POL-FAD-IMPORT-3044 (assessed 15 Nov 2023).
11. Garcia-Fuentes A.R., Wirtz S., Vos E., Verhagen H. (2015): Short review of sulphites as food additives. European Journal of Nutrition & Food Safety, 5: 113-120.

12. Günther A., König T., Habicher W.D., Schwetlick K. (1998): Antioxidant action of organic sulfites—II. Esters of sulfurous acid as primary antioxidants. Polymer degradation and stability, 60: 385-391.
13. Iberl B., Winkler G., Müller B., Knobloch K. (1990): Quantitative determination of allicin and alliin from garlic by HPLC. Planta medica, 56: 320-326.
14. Kim H.Y., Lee Y.J., Hong K.H., Kwon Y.K., Ko H.S., Lee Y.K., Lee C.W. (2000): Studies on the contents of naturally occurring of sulfite in foods. Korean Journal of Food Science and Technology, 32: 544-549.
15. Lafeuille J.L., Lefevre S., Achouri D. (2007): Determination of added sulfites in dried garlic with a modified version of the optimized Monier-Williams method. Journal of AOAC International, 90: 1090-1097.
16. Mochizuki E., Yamamoto T., Horie M., Ikai Y., Nakazawa H. (1997): Simultaneous determination of alliin and allicin in allium plants and their products by liquid chromatography. Journal of AOAC international, 80: 1052-1056.
17. Perfetti G.A., Diachenko G.W. (2003): Determination of sulfite in dried garlic by reversed-phase ion-pairing liquid chromatography with post-column detection. Journal of AOAC International, 86: 544–550.
18. Petropoulos S., Di Gioia F., Ntatsi G. (2017): Vegetable organosulfur compounds and their health promoting effects. Current pharmaceutical design, 23: 2850-2875.
19. Rao B.R.R., Rajput D.K. (2005): Organic Farming: Medicinal and Aromatic Plants; Invited Papers Und Extended Summaries; lndian Council of agricultural research: New Delhi, India: 1–13.
20. Robbins C.K.S., de Jager L.S. (2016): Comparison of multiple methods for the determination of sulphite in Allium and Brassica vegetables. Food Additives & Contaminants: Part A, 33: 1509-1517.
21. Shaikh S.M., Doijad R.C., Shete A.S., Sankpal P. S. (2016): A Review on Preservatives used in Pharmaceuticals and impacts on Health. PharmaTutor, 4: 25-34.
22. Test for determination of sulfites. Available at https://www.merckmillipore.com/CZ/cs/product/Sulfite-Test,MDA_CHEM-116987 (assessed 15 Nov 2023).
23. Unger-Heumann M. (2001): Trace Element Speciation for Environment. Food and Health. The Royal Society of Chemistry, 211-220.
24. Yu H.H., Chin Y.W., Paik H.D. (2021): Application of natural preservatives for meat and meat products against food-borne pathogens and spoilage bacteria: A review. Foods, 10: 2418.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported from the grant of Specific university research – grant No A1_FPBT_2023_004.

CONTACT

Ing. Novel Kishor Bhujel; Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha, Technická 3, Praha 6 - Dejvice, 166 28; Tel: +420 220 443 246, email: bhujeln@vscht.cz

P4

AKTUÁLNE TRENDY A KĽÚČOVÉ VÝZVY v POTRAVINÁRSKOM PRIEMYSLE

CURRENT TRENDS AND KEY CHALLENGES IN THE FOOD INDUSTRY

Jozef Golian, Lucia Benešová, Silvia Jakabová

Ústav potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre,
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

ABSTRACT

Potraviny sú základnou nevyhnutnosťou pre život, rast, prežitie a udržanie správnej funkcie tela. Rastúci dopyt po potravinách vedie výrobcov aj spotrebiteľov k hľadaniu alternatívnych zdrojov potravín s vysokou nutričnou hodnotou. V posledných rokoch čelili výrobné spoločnosti rôznym výzvam súvisiacim s nestálym dopytom a meniacimi sa požiadavkami zo strany zákazníkov, ako aj dodávateľov. Tento trend má priamy vplyv na hodnotový reťazec. V posledných rokoch musia výrobné spoločnosti čeliť niekoľkým výzvam, ktoré súvisia najmä s nestálosťou dopytu a neustále sa meniacimi požiadavkami zo strany zákazníkov aj dodávateľov. Medzitým boli implementované nové technologické plány a navrhované zásahy do výrobných systémov. Cieľom týchto riešení je využiť vysoký inovačný a ekonomický potenciál vyplývajúci z pokračujúceho vplyvu rýchlo sa rozvíjajúcich informačných a komunikačných technológií (IKT) v priemysle. Na Slovensku sa začína riešiť projekt digitálny y zelená transformácia, ktorého cieľom bude aktualizovať štandardy zamestnaní o digitálne kompetencie. Do vzdelávacieho systému bude potrebné zaradiť problematiku digitálnych zručností, bude potrebné vytvoriť systém celoživotného vzdelávania a špecializovaných kurzov pre pracovníkov v potravinárskom priemysle.

Kľúčové slová: *budúcnosť potravín, umelá inteligencia (AI), udržateľnosť, potravinársky priemysel*

ABSTRACT

Food is a basic necessity for life, growth, survival, and maintaining a proper body function. Rising food demand leads both producers and consumers to search for alternative food sources with high nutritional value. In recent years, manufacturing companies have been faced various challenges related to volatile demand and changing requirements from customer as well as suppliers. This trend has a direct impact on the value chain. : Over the last years, manufacturing companies have to face several challenges, mainly related to the volatility of the demand and to the continuously changing requirements, both from the customers and suppliers. In the meantime, new technological roadmaps and suggested interventions in manufacturing systems have been implemented. These solutions aim to exploit the high innovation and

economic potential resulting from the continuing impact of rapidly advancing information and communication technology (ICT) in industry. In Slovakia, the digital and green transformation project is starting to be tackled, the aim of which will be to update employment standards with digital competences. It will be necessary to include the issue of digital skills in the educational system, it will be necessary to create a system of lifelong learning and specialized courses for workers in the food industry.

Keywords: *Future of Food, Artificial Intelligence (AI), Sustainability, Food Industry*

ÚVOD

V súčasnom období možno konštatovať, že téma tzv. digitalizácie v potravinárskom sektore sa začína intenzívne rozvíjať za posledné štyri roky so spoločným kľúčovým slovom „Faktory budúcnosti“ a „Potraviny“. Trendy digitalizácie veľmi úzko súvisia v potravinárskom sektore s trvalo udržateľnosťou, robotizáciou a internetom vecí.

NÁSTUP UMELEJ INTELIGENCIE

Riešenia umelej inteligencie a strojového učenia získavajú vďaka výpočtovej náročnosti svoje uplatnenie prevažne v cloudovom prostredí. Napríklad výrobcovia základných potravín teraz nasadzujú modely strojového učenia na minimalizáciu odpadu a optimalizáciu výnosu pri výrobe syrov resp. iných potravín. V minulosti dokázali takéto firmy analyzovať iba celkový objem výroby a spätne niekoľko parametrov, ako napr. obsah proteínov, tuku a skladovaciu teplotu, čo bolo príliš neskoro na zlepšenie šarže. Dnes je možné výrobné procesy sledovať kontinuálne a mať k dispozícii oveľa viac aktuálnych dát, pričom zvýšenie zisku o jediné percento sa môže premietnuť do úspor státisícov eur. Ďalšou oblasťou, kde sa už AI uplatňuje, sú produktové odporúčania v oblasti potravinárskych prísad. Jednou z najvýraznejších úloh umelej inteligencie v potravinárskom priemysle je jej schopnosť sledovať a predpovedať nadchádzajúce trendy. Analýzou obrovského množstva dát zo sociálnych sietí, webov reštaurácií, recenzií spotrebiteľov a pod. môžu algoritmy AI s vysokou presnosťou určiť nové potravinárske trendy, ktoré medzi spotrebiteľmi rezonujú. Tieto cenné poznatky potom podnikom umožňujú udržať si náskok. Jednou z najvýraznejších úloh umelej inteligencie v potravinárskom priemysle je jej schopnosť sledovať a predpovedať nadchádzajúce trendy. Objavovaním nových príchutí a ich ochutnávkou prínosy umelej inteligencie nekončia. Systémy podporované umelou inteligenciou umožňujú výrobcom zvýšiť efektivitu výroby a obmedziť plytvanie energiou a materiálmi, čo vedie k ďalším úsporám a udržateľnejšej výrobe. Najväčším benefitom pre spotrebiteľov je však zvýšená kontrola kvality, ktorú AI prináša do výrobných podnikov. V tabuľke 1 uvádzame najvýznamnejšie obavy súvisiace s jednotlivými oblasťami v potravinárstve.

Tabuľka 1: Hlavné obavy týkajúce sa potravinárstva a priemyslu do budúcnosti

Oblasť	Súvisiace obavy
Bezpečnosť potravín	Zahŕňa obavy súvisiace s chorobami prenášanými potravinami, kontamináciou a rezíduami chemických látok v potravinách.
Udržateľnosť	Zahŕňa obavy súvisiace s environmentálnym vplyvom výroby potravín, napr. ako emisie skleníkových plynov, využívanie vody a využívanie pôdy.
Výživa	Zahŕňa obavy súvisiace s nutričnou hodnotou potravín vrátane obsahu vitamínov, minerálnych látok a iných základných živín.
Potravinový odpad	Zahŕňa obavy súvisiace s množstvom potravín, ktoré sa vyhodia z výroby, distribúcie a spotreby potravín a životného prostredia a sociálne dopady tohto odpadu.
Potravinová bezpečnosť	Zahŕňa obavy súvisiace s dostupnosťou a prístupnosťou potravín pre všetkých ľudí vrátane problémov chudoby a nerovnosti.
Genetické modifikácie	Zahŕňa obavy týkajúce sa bezpečnosti a etických dôsledkov geneticky modifikovaných potravín.
Správanie spotrebiteľov	Zahŕňa obavy súvisiace s preferenciami, postojmi a správaním spotrebiteľov smerom k potravinárstvu a potravinárskemu priemyslu, ako aj otázky súvisiace s marketingom potravín a označovaním.

POTRAVINÁRSKE INOVÁCIE

Výpadky dodávateľských reťazcov a následný nedostatok určitých surovín či skokový nárast cien núti výrobcov rýchlejšie inovovať, či už použitím náhradných ingrediencií, nákupom od alternatívnych dodávateľov alebo zmenšovaním predajných balení. Okrem toho prebiehajú inovačné procesy na úrovni start-upov, ktoré prichádzajú napríklad s laboratórne vytvoreným mäsom, proteínovou výživou a syntetickými potravinami, aby vyhoveli dopytu spotrebiteľov po potravinách s nižšími nárokmi na životné prostredie.

UDRŽATEĽNOSŤ A TRANSPARENTNOSŤ

Klimatické zmeny majú na potravinárstvo určite významný vplyv aj z pohľadu spotreby zdrojov a stále drahších energií. Potravinárske organizácie sa čoraz viac presúvajú k lokálnym zdrojom surovín, aby čo najviac šetrili energetickými zdrojmi a optimalizovali náklady na dopravu, k čomu im opäť pomáhajú technológie umelej inteligencie. A nakoniec systémy vysledovateľnosti potravinárskych šarží zaisťujú maximálnu možnú transparentnosť, či už kvôli vyhoveniu prísnym normám, alebo z dôvodu tlaku verejnosti na poskytovanie pravdivých informácií o zložení a pôvode potravinárskych produktov.

AUTOMATIZÁCIA, ROBOTIKA A PRIEMYSEL 4.0

Autonómne systémy budú mať hlboký vplyv na potravinársky priemysel. S vylepšením výkonu senzorov v skutočnosti niektorí výrobcovia potravín implementujú umelú inteligenciu. Systémy zberu dát sú schopné presne charakterizovať zložité biologické prísady a produkty, čo výrobcom umožňuje automatizovať procesy a odvodiť rovnakú hodnotu z prediktívnej analýzy dát, ktorú iné segmenty vykonávajú už roky.

Mnoho menších domácich výrobcov sa stretávalo s problémami s prijatím automatizácie, najmä pre prácu s veľkým množstvom zmesi a malým objemom. Priemysel 4.0 vyžaduje značné kapitálové investície a nové zručnosti pracovnej sily v oblasti analytiky a programovania, po ktorých je vo všetkých odvetviach vysoký dopyt. Ale výhody automatizácie sú rozsiahle, vrátane:

- Zvýšenej efektivity výroby.
- Potenciálu na prevádzku 24/7.
- Zníženia nárokov na pracovnú silu.
- Zvýšenia doby prevádzkyschopnosti a predĺžená životnosti strojov.
- Zlepšenia kvality a opakovateľnosti.

OPTIMALIZÁCIA ZDROJOV (UDRŽATEĽNOSŤ)

Potravinársky priemysel bude pravdepodobne čeliť nárastu legislatívy týkajúcej sa emisií, využívania zdrojov a odpadu. Dobrou správou je, že pokročilé technológie umožňujú efektívnejšiu správu zdrojov.

Mnoho potravinárskych spoločností môže v tejto oblasti dosiahnuť významné zlepšenie tým, že sa naučí, ako kvantifikovať svoje toky odpadu a merať zlepšenia. Spoločnosti, ktoré sú najúspešnejšie v optimalizácii svojich zdrojov, vykonávajú audity využitia zdrojov, či už interné alebo externé. Viete napríklad, koľko hliníka alebo vody vaša spoločnosť spotrebuje? Dá sa niečo z toho znížiť alebo znova použiť?

SÚČASNÉ A BUDÚCE SÚVISIACE TECHNOLÓGIE

V tabuľke 3 a 4 uvádzame súčasné a budúce kľúčové výzvy a technológie v potravinárskom priemysle. V jednotlivých oblastiach sú zadefinované aktuálne trendy, kľúčové výzvy, bežné a budúce technológie. V každej oblasti už v súčasnosti tieto trendy existujú, budúce obdobie ich len viac prehĺbi a rozšíri. Všetky uvedené trendy budú ovplyvnené práve digitalizáciou a umelou inteligenciou. Aktuálne trendy v potravinárskom priemysle významne ovplyvnia aj oblasť výživy a nutrigenomiky. To je oblasť, ktorá čoraz intenzívnejšie smeruje k pesonalizovanej výžive založenej na odhalení vzťahu genetiky a výživy.

Tabuľka 3: Súčasné trendy a kľúčové výzvy v potravinárskom priemysle

Oblasť	Aktuálne trendy	Kľúčové výzvy
Udržateľnosť a klimatická zmena	Prijatie praktík regeneratívneho poľnohospodárstva	Implementácia princípov obehového hospodárstva
Bezpečnosť a kvalita potravín	Zvýšenie využívania blockchainu a technológie pre vysledovateľnosť	Zabezpečenie dodržiavania legislatívy bezpečnosti potravín
Výživa a zdravie	Rastúci dopyt po personalizovanej výžive	Pochopenie komplexnej súhry medzi genetikou a výživou
Spracovanie a balenie potravín	Požiadavka na clean label a minimálne spracované potraviny	Vývoj riešení inovatívnych inteligentných obalov
Digitalizácia a umelá inteligencia v potravinárstve	Zvyšujúca sa integrácia robotiky a umelej inteligencie vo výrobe potravín	Prispôsobovanie sa meniacim sa preferenciám a požiadavkám spotrebiteľov
Alternatívne zdroje výroby potravín	Rastúci záujem o rastlinné a kultivované výrobky na báze mäsa	Zvýšenie výroby tak, aby vyhovovala dopytu

Tabuľka 4: Súčasné a budúce technológie v potravinárskom priemysle

Oblasť	Aktuálne témy na diskusiu	Témy budúceho zamerania	Bežne používané technológie	Budúce technológie
Udržateľnosť a zmena klímy	Zníženie potravinového odpadu a uhlíková stopa	Regeneratívne poľnohospodárstvo a cirkulárna ekonomika	Obnoviteľná energia, inteligentné poľnohospodárstvo, presné poľnohospodárstvo	Biologicky odbúrateľné obaly, vertikálne poľnohospodárstvo, laboratórne kultivované mäso
Bezpečnosť a kvalita	Prevencia potravinových podvodov, alimentárne ochorenia a ich prevencia a detekcia	Blockchain, technológie monitorovania v reálnom čase	HACCP, GMP, systémy vysledovateľnosti potravín	Nanotechnológie, biosenzory, strojové učenie
Výživa a zdravie	Personalizovaná výživa a funkčné potraviny	Nutrigenomika a výskum mikrobioty tráviaceho systému	Fortifikácia a výživové doplnky	Úprava génov, CRISPR, potraviny ako liek
Spracovanie a balenie potravín	Clean label, prírodné zložky a minimálne opracovanie	Inteligentné obaly aktívne a inteligentné balenie	Tepelné spracovanie, extrúzia, aseptická spracovanie	3D tlač, nanotechnológie, jedlé obaly
Digitalizácia a umelá inteligencia v potravinárstve	Elektronický obchod, digitálny zásobovací reťazec	Robotika a umelá inteligencia	ERP, CRM, inventár riadiacich systémov	IoT, blockchain, autonómne vozidlá
Alternatívne zdroje potravín a ich výroby	Rastlinné potraviny, kultivované mäso, proteíny hmyzu	Riasy, bunkové poľnohospodárstvo	Hydropónia, akvakultúra, fermentácia	Vertikálne poľnohospodárstvo, mäso kultivované v laboratóriu, hmyz bielkoviny

UMELÁ INTELIGENCIA A MANAŽMENT

Vzhľadom k súčasnému stavu poznatkov môžeme povedať, že AI sa môže efektívne podieľať na troch rôznych kategóriách riadenia:

1) kontrola kvality a bezpečnosti potravín,
2) vývoj produktov a
3) personalizovaná výživa.

Pokiaľ ide o kontrolu kvality a bezpečnosti potravín, AI môže pomôcť analyzovať obrovské množstvo údajov na identifikáciu vzorcov a odhaliť potenciálne riziká alebo kontaminanty vo výrobe potravín a dodávateľských reťazcoch.

Môže pomôcť pri monitorovaní faktorov, ako je teplota, vlhkosť a podmienky skladovania, aby sa zabezpečila správna manipulácia s potravinami a znížilo sa riziko znehodnotenia alebo kontaminácie. Pri vývoji produktov môže AI pomôcť pri formulovaní a optimalizácii nových potravinárskych produktov analýzou kombinácií zložiek, nutričných profilov a preferencií spotrebiteľov. Môže pomôcť aj pri predpovedaní spotrebiteľských trendov a preferencií, čo umožňuje spoločnostiam prispôsobiť svoje ponuky produktov tak, aby

vyhovovali požiadavkám trhu. V oblasti personalizovaných potravín môže AI prispieť k rozvoju prispôsobených výživových plánov a diétnych odporúčaní na základe individuálnych zdravotných požiadaviek, preferencií a diétnych obmedzení. AI môže analýzou osobných údajov a poskytovaním personalizovaných prehľadov pomôcť pri vytváraní jedálnička na mieru.

ZÁVER

V súčasnom období možno konštatovať, že ide o rýchly pokrok v technológiách, ktoré prispievajú k rozvoju potravinárskeho priemyslu a formovaniu jeho budúceho vývoja v kontexte udržateľnosti. Definovali sme niekoľko kľúčových tém a technológií, o ktorých sa v súčasnosti diskutuje, a na ktoré sa bude zameriavať umelá inteligencia pri výrobe potravín v budúcnosti. Od riešenia problémov trvalej udržateľnosti a zmeny klímy prostredníctvom redukcie plytvania potravinami, k zabezpečeniu bezpečnosti a kvality potravín pomocou technológie blockchain a monitorovania v reálnom čase. Výživa a zdravie sa dostávajú do popredia, pričom personalizovaná výživa a potraviny s definovanou funkciou sa stávajú čoraz zaujímavejšie. Okrem toho clean label a minimálne opracované potraviny predstavujú významné zmeny v spracovaní a balení potravín, zatiaľ čo digitalizácia a automatizácia prinášajú revolúciu do operácií prostredníctvom elektronického obchodu a riadenia digitálneho dodávateľského reťazca. Rozširovanie alternatívnych zdrojov potravín, napríklad rastlinných alternatív alebo kultivovaného mäsa, pripravuje pôdu pre udržateľnejší a diverzifikovanejší potravinový systém. Je však dôležité sledovať kľúčové výzvy, ktoré pred nami stoja. K nim patrí implementácia princípov obehového hospodárstva, zabezpečenie súladu s legislatívou o bezpečnosti potravín, pochopenie súhry medzi genetikou a výživou, vývoj inovatívnych inteligentných obalových materiálov a prispôsobovanie sa meniacim preferenciám a požiadavkám spotrebiteľov.

LITERATÚRA

1. Addanki, M., Patra, P., Kandra, P. 2022. Recent advances and applications of artificial intelligence and related technologies in the food industry. *Applied Food Research*, 2(2), 100126. https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100126
2. Awuchi, C. G. 2023. HACCP, quality, and food safety management in food and agricultural systems. *Cogent Food & Agriculture*, 9 (1). https://doi.org/10.1080/23311932.2023.2176280
3. Deidre McPhillips. 2023. ChatGPT may have better bedside manner than some doctors, but it lacks some expertise. CNN. https://edition.cnn.com/2023/04/28/health/chatgpt-patient-advice-study-wellness/index.html
4. Ebrahimi Pure, A., Yarmand, M. S., Farhoodi, M., Adedeji, A. 2021. Microwave treatment to modify textural properties of high protein gel applicable as dysphagia food. *Journal of Texture Studies*, 52(5–6), 638–646. https://doi.org/10.1111/jtxs.12611
5. Ezati, P., Khan, A., Priyadarshi, R., Bhattacharya, T., Tammina, S. K., Rhim, J. W. 2023. Biopolymer- based UV protection functional films for food packaging. *Food Hydrocolloids*, 142, 108771. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108771
6. FAO. 2021a. Food loss and waste: Key facts and figures. http://www.fao.org/3/cb100e/ cb100e.pdf
7. FAO. 2021b. Food loss and waste facts. http://www.fao.org/food-loss-and-food-waste/flw-data/en
8. Ganeson, K., Mouriya, G. K., Bhubalan, K., Razifah, M. R., Jasmine, R., Sowmiya, S., Amirul, A. A. A., Vigneswari, S., Ramakrishna, S. 2023. Smart packaging − A pragmatic solution to approach sustainable food waste management. *Food Packaging and Shelf Life*, 36, 101044. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101044

9. Jaques, A., Sánchez, E., Orellana, N., Enrione, J., Acevedo, C. A. 2021. Modelling the growth of *in vitro* meat on micro structured edible films. *Journal of Food Engineering*, 307, 110662. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110662
10. Karabay, A., Bolatov, A., Varol, H. A., Chan, M. Y. 2023. A Central Asian Food Dataset for *Personalized Dietary Interventions. Nutrients*, 15(7), 1728. https://doi.org/10.3390/nu 15071728
11. Lock, S. 2022. What is AI chatbot phenomenon ChatGPT and could it replace humans? The Guardian. https://www.theguardian.com/technology/2022/dec/05/what-is-ai-chatbot-pheno menon-chatgpt-and-could-it-replace-humans
12. Ma, Y., Potappel, J., Schutyser, M. A. I., Boom, R. M., Zhang, L. 2023. Quantitative analysis of 3D food printing layer extrusion accuracy: Contextualizing automated image analysis with human evaluations. *Current Research in Food Science*, 6, 100511.https://doi.org/10.1016 j.crfs.2023.100511
13. Mancini, M. C., Antonioli, F. 2022. Italian consumers standing at the crossroads of alternative protein sources: Cultivated meat, insect-based and novel plant-based foods. *Meat Science*, 193, 108942. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108942
14. Marvin, H. J. P., Bouzembrak, Y., van der Fels-Klerx, H. J., Kempenaar, C., Veerkamp, R., Chauhan, A., Stroosnijder, S., Top, J., Simsek-Senel, G., Vrolijk, H., Knibbe, W. J., Zhang, L., Boom, R., Tekinerdogan, B. 2022. Digitalisation and Artificial Intelligence for sustainable food systems. *Trends in Food Science & Technology*, 120, 344–348. https://doi.org/10. 1016/j.tifs.2022.01.020
15. Mavani, N. R., Ali, J. M., Othman, S., Hussain, M. A., Hashim, H., Rahman, N. A. 2022. Application of Artificial Intelligence in Food Industry-a Guideline. *Food Engineering Reviews*, 14(1), 134–175. https://doi.org/10.1007/s12393-021-09290-z
16. McCarthy, C. 2023. ChatGPT use could change views on academic misconduct. Student Affairs Today, 26(2), 3–6. https://doi.org/10.1002/say.31227
17. Mohammadi, L., Tanaka, F., Tanaka, F. 2021. Preservation of strawberry fruit with an Aloe vera gel and basil (*Ocimum basilicum*) essential oil coating at ambient temperature. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(10). https://doi.org/10.1111/jfpp.15836
18. ReFED. 2021. The Roadmap to Reduce U.S. Food Waste by 50%.
19. https://www.refed.com/downloads/The Roadmap to Reduce US Food Waste by 50%25.pdf
20. Scerri, A., Morin, K. H. 2023. Using chatbots like ChatGPT to support nursing practice. *Journal of Clinical Nursing*. https://doi.org/10.1111/jocn.16677
21. White, K. P., Al-Shawaf, L., Lewis, D. M. G., Wehbe, Y. S. 2023. Food neophobia and disgust, but not hunger, predict willingness to eat insect protein. Personality and Individual Differences, 202, 111944. https://doi.org/10.1016/j.paid.2022.111944
22. Zheng, Y. Y., Chen, Y., Zhu, H. Z., Li, C. B., Song, W. J., Ding, S. J., Zhou, G. H. 2022. Production of cultured meat by culturing porcine smooth muscle cells *in vitro* with food grade peanut wire-drawing protein scaffold. *Food Research International*, 159, 111561.
23. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111561

KONTAKTNÁ ADRESA

prof. Ing. Jozef Golian, Dr. Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovenská republika, jozef.golian@uniag.sk

P5

Využití chitosanu pro potlačení růstu kvasinek

Use of Chitosan to Suppress Yeast Growth

Iveta Horsáková, František Kvasnička, Emma-Josefína Klaisnerová

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Tato práce je zaměřena na využití chitosanu pro potlačení růstu kvasinek. Pro testování byly vybrány druhy *Debaryomyces hansenii, Pichia fermentans, Rhodotorula mucilaginosa* a *Zygosaccharomyces bailii*. Odolnost kvasinek vůči chitosanu byla testována ve dvou různých médiích, a to médium s peptonem a médium se Sabouradovým bujonem, do kterých byly přidány různé koncentrace chitosanu nebo různé typy chitosanů. Bylo zjištěno, že nejlepší účinek na kvasinky má nejvyšší použita koncentrace chitosanu 0,5 %, kde nebyl zaznamenán růst ani jedné z uvedených kvasinek. Při testování různých typů chitosanů o koncentraci 0,2 % došlo k nárůstu pouze u kvasinky *Pichia fermentans.*

Klíčová slova: *chitosan, kvasinky, potlačení růstu*

SUMMARY

This paper is focused on the use of chitosan to suppress yeast growth. The species *Debaryomyces hansenii, Pichia fermentans, Rhodotorula mucilaginosa* and *Zygosaccharomyces bailii* were selected for testing. Yeast resistance to chitosan was tested in two different media, peptone medium and Sabourad broth medium, there were added different concentrations of chitosan or different types of chitosans to these media. The highest chitosan concentration of 0.5% was found to have the best effect on yeast, no growth of any of the mentioned yeasts was observed in this case. During testing of different types of chitosans at a concentration of 0.2%, there was observed growth only in the case of yeast *Pichia fermentans*.

Keywords: *chitosan, yeast, growth inhibition*

ÚVOD

Přirozený výskyt chitosanu není příliš častý, obvykle je uměle syntetizován z chitinu, jehož zdrojem jsou řada živočichů například korýši, hlavonožci nebo různé druhy plísní a řas. Chitosan samotný se nejčastěji vyrábí z chitinu extrahovaného z exoskeletů korýšů, jako jsou například krabi nebo krevety, zejména proto, že tyto exoskelety jsou hlavním vedlejším produktem jejich zpracování v potravinářství. Jsou tedy levným, původně odpadním materiálem vhodným k dalšímu zpracování. V případě hlavonožců, jako jsou například sépie,

je jako zdroj chitinu pro výrobu chitosanu běžně užívána sépiová kost, neboť jde o odpad z potravinářského zpracování těchto živočichů a je tedy velmi levná. Další výhodou této suroviny je nízký obsah vápníku ve srovnání s exoskelety korýšů, který je jinak potřeba odstranit. Je tak možné ze sépiových kostí extrahovat kvalitnější chitin díky tomu vyrobit i chitosan, který neobsahuje kontaminanty, jako vápník nebo karotenoidy kontaminující chitosan extrahovaný z krabích exoskeletů a který je díky tomu je dále vhodný například k medicinálnímu použití.[1,2]

Dalším možným a využívaným zdrojem chitosanu jsou plísně patřící do oddělení Ascomycota, Basidiomycota Zygomycota U rodu *Zygomycetes* byl zjištěn nejvyšší obsah chitinu i chitosanu v buněčných stěnách. Dalšími rody plísní, ze kterých je možno extrahovat chitosan jsou například *Absidia, Mucor* nebo *Rhizopus.* Mimo buněčné stěny se může chitin a/nebo chitosan vyskytovat i v membránách mycelií, ve stopkách či sporách těchto plísní. Jeho extrakce je možná bez demineralizace, která je nezbytná v případě získávání chitinu z exoskeletů korýšů. To je dáno nižším obsahem anorganických látek, než je tomu u exoskeletů korýšů. Výhodou plísní jako zdroje chitosanu je, že jde o velmi levný zdroj, a navíc odpad této extrakce je použitelný jako levná biomasa pro kultivaci dalších plísní. Extrakce je mimo jiné také šetrná k životnímu prostředí, díky nižšímu množství odpadů uvolněného během procesu. Množství chitinu v buněčných stěnách plísní je ovšem značně nižší, než v případě těl korýšů a nejsou tak považovány za plnohodnotný zdroj pro výrobu chitosanu. Další variantou výroby chitosanu je také syntéza s využitím deacetylázového enzymu.[3-6]

Chitosan má využití v různých odvětvích průmyslu. Například v kosmetice lze použít jeho vysokomolekulární formy ve výrobcích určených alergikům, díky jeho schopnostem redukovat kožní Další možností je využití jeho antimikrobiálních vlastností při péči o zuby a dáseně.[7]

V rámci použití chitosanu ve farmaceutickém průmyslu je často využíváno jeho mukoadhezivity a také jeho schopnosti zvýšené adsorpce, díky jeho vysoké afinitě k buněčným membránám. Jeho emulgačních schopností lze využít pro stabilizaci a obalení biopolymerních nanočástic určených pro diagnózu nebo i léčbu rakoviny.

V rámci zemědělství může být chitosan použit jako regulátor růstu rostlin, fungicid nebo se mohou jeho roztoky užívat k máčení různých semen za účelem podpory růstu rostlin.[8-10]

V potravinářství je chitosan používán jako aditivum. Po smísení chitosanu, běžně se vyskytujícího ve formě polykationtu, s roztokem částic s negativním nábojem dochází ke koagulaci. Disperze těchto směsí jsou obvykle vysoce viskózní. Díky této vysoké viskozitě je používán jako emulgátor při výrobě margarínů, nebo jako stabilizátor emulzí v sýrech, ve zmrzlině nebo různých pěnách. V těchto potravinách nefunguje pouze jako emulgátor, ale také jako gelující činidlo.[2, 11]

Další výhodou chitosanu v potravinářském průmyslu je jeho schopnost vázat barviva díky jeho afinitě k těmto barvivům, čímž je dosaženo jejich stabilizace. Může také fungovat jako antioxidační činidlo sekundárního typu, tedy činidlo, které je schopné chelatace kovových iontů účastnících se katalýzy oxidačních reakcí.[11]

Chitin i chitosan byly v minulosti zkoumány pro jejich antimikrobiální účinek vůči velkému množství organismů, mezi které patří například řasy, bakterie, kvasinky a plísně.

V případě kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* byly během zkoumání účinku zjištěny u organismu různé odpovědi, například ovlivnění metabolických cest způsobujících integritu

buněčné stěny. Buňka byla navíc po vystavení chitosanu odolnější vůči enzymu β-1,3-glukanase (EC 3.2.1) patřící mezi enzymy narušující buněčné membrány. Ve studiích bylo potvrzeno, že je přinejmenším u kvasinek zapotřebí plně funkční buněčné membrány i buněčného povrchu pro získání odolnosti vůči antimikrobiálnímu účinku chitosanu. V případě kvasinky *Candida albicans* bylo zjištěno, že je možná inkorporace chitosanu do buněčné stěny, díky velké podobnosti molekul chitosanu s chitinem, který kvasinka používá během vegetativní fáze života pro zpevnění buněčné stěny. Touto záměnou může pak pravděpodobně dojít k omezení buněčného růstu.[12]

METODIKA

Živné médium s peptonem

Pro první část pokusů byla vytvořena řada roztoků obsahujících glukózu a pepton z masa o koncentraci 5 resp. 20 $g.l^{-1}$, jako kultivační médium pro zkoumané kvasinky. K těmto dvěma složkám byla kyselina citronová tak, aby její výsledná koncentrace v roztoku byla 5 $g.l^{-1}$ a chitosan o střední molekulové hmotnosti (chitosan medium MW). Složení peptonových médií je přehledně uvedeno v tabulce 1.

Tabulka 1: Složení roztoků živného média s peptonem pro testování účinnosti různých koncentrací chitosanu na vybrané kvasinky

Označení	Pepton z masa [$g.l^{-1}$]	Bezvodá glukosa [$g.l^{-1}$]	Bezvodá kyselina citronová [$g.l^{-1}$]	Chitosan medium M_w [$g.l^{-1}$]	pH
Kontrola 1	5	20	0	0	5,2
Chitosan 0 %	5	20	5	0	3,0
Chitosan 0,1 %	5	20	5	1	3,1
Chitosan 0,2 %	5	20	5	2	3,2
Chitosan 0,5 %	5	20	5	5	3,2

V případě kvasinek *Debaryomyces hansenii, Pichia fermentans, Rhodotorula mucilaginosa* bylo navíc provedeno ověření druhou kontrolou, kdy byl sledován růst kvasinek ve sladinovém bujonu. Výsledky tohoto ověření jsou uváděny pod označením Kontrola 0.

Živné médium Sabouradův bujon

V rámci druhého experimentu byla zjišťována inhibice růstu stejných druhů kvasinek. Jako živná půda byl v tomto případě použit roztok Sabouraudova bujonu s přídavkem kyseliny citronové a pěti různých typů chitosanu o koncentraci 0,2 %. Cílem bylo zjistit jaký je rozdíl v působení různých typů chitosanu. Složení těchto médií je přehledně uvedeno v tabulce 2.

Tabulka 2: Složení roztoků Sabouradova bujónu pro testování účinnosti různých druhů chitosanu na vybrané kvasinky

Označení	Sabourad [g.l^{-1}]	Bezvodá kyselina citronová [g.l^{-1}]	Chitosan medium M-W [g.l^{-1}]	pH
Kontrola 0	4,5	0	0	5,6
Kontrola 1	4,5	5	0	3,5
Chitosan Low [1]	4,5	5	2	3,7
Chitosan Medium [2]	4,5	5	2	3,7
Chitosan High [3]	4,5	5	2	3,7
Chitosan Dorapis [4]	4,5	5	2	3,7
Chitosan Porta [5]	4,5	5	2	3,7
Chitosan Porta 1	4,5	5	2	3,7

[1] low molecular weight chitosan, kat.č. 448869, š. BCCD9853, Aldrich (USA)

[2] medium molecular weight chitosan, kat.č. 448869, š. BCCD9853, Aldrich (USA)

[3] high molecular weight chitosan, kat.č. 448869, š. BCCD9853, Aldrich (USA)

[4] high density chitosan (0,6 g/ml), Dorapis, www.dorapis.cz

[5] high density grade chitosan, š. 1020140503, Porta s.r.o., ČR, www.porta.cz

Metoda pro zjištění antimikrobiálních vlastností chitosanu na kvasinky

Připravená kultivační média (složení viz tabulka 1 a 2) byla odměřena po 10 ml do sterilních zkumavek o objemu 50 ml a naočkována 100 µl kvasinkové kultury o koncentraci 10^8 KTJ.ml^{-1}. Následně byly zkumavky vloženy do bioreaktoru RTS-8 (BioSan, LVA). Parametry pro měření růstu kvasinek byly tyto: teplota: 25 °C, otáčky: 500 min^{-1}, interval měření: 5 min; vlnová délka měření OD: 600 nm, celková doba měření až 160 h, kultivace za aerobních podmínek. Pro ověření faktu, že změna optické hustoty je způsobena růstem mikroorganismů a nikoli jiným zdrojem zákalu byl s každou sadou experimentů sledován i slepý pokus bez zaočkování kulturou mikroorganismů.

Pro testování antimikrobiálních vlastností chitosanu byly zvoleny 4 kvasinkové kmeny *Debaryomyces hansenii, Pichia fermentans, Rhodotorula mucilaginosa* a *Zygosaccharomyces bailii*. Výběr byl cílen jak na kmeny rezistentní, tak na kmeny citlivé k antimikrobiálně aktivním látkám, a to na základě interních experimentů uskutečněných v minulosti na Ústavu konzervace potravin VŠCHT Praha.

VÝSLEDKY

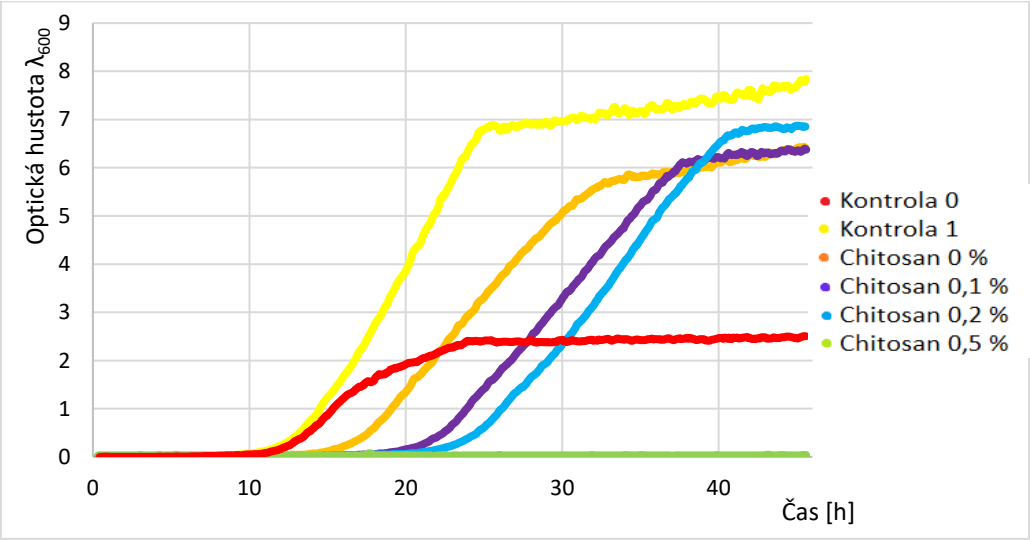
Tabulka 3: Vliv chitosanu na vybrané kvasinky v peptonovém médiu

Označení	*Zygosaccharomyces bailii*	*Debaryomyces hansenii*	*Pichia fermentans*	*Rhodotorula mucilaginosa*
Kontrola 0	-	Roste	Roste	Roste
Kontrola 1	Roste	Roste	Roste	Roste
Chitosan 0 %	Roste	Roste	Roste	Roste
Chitosan 0,1 %	Neroste	Neroste	Roste	Neroste
Chitosan 0,2 %	Neroste	Neroste	Roste	Neroste
Chitosan 0,5 %	Neroste	Neroste	Neroste	Neroste

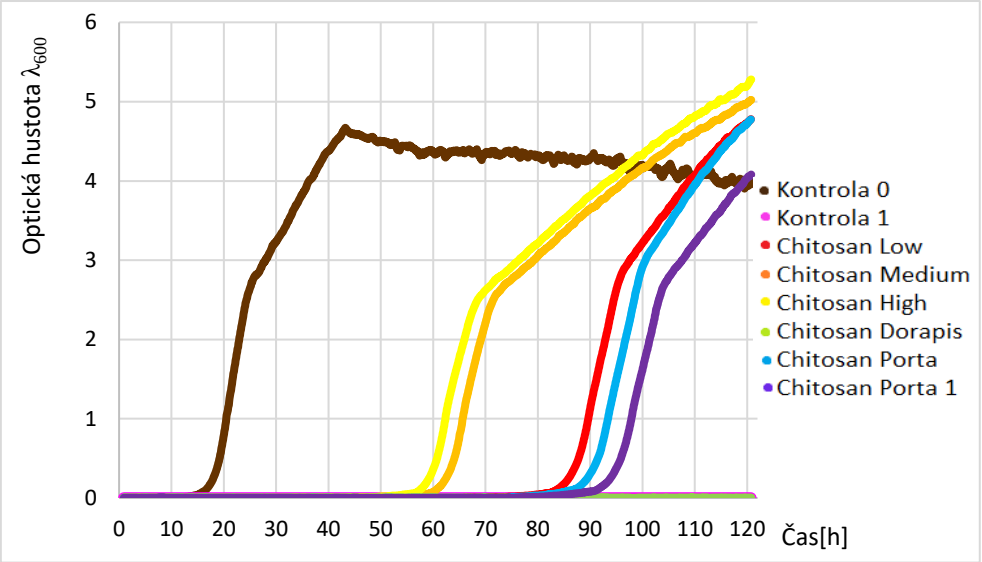
Tabulka 4: Vliv chitosanu na vybrané kvasinky v sabouradovém médiu

Označení	*Zygosaccharomyces bailii*	*Debaryomyces hansenii*	*Pichia fermentans*	*Rhodotorula mucilaginosa*
Kontrola 0	Roste	Roste	Roste	Roste
Kontrola 1	Neroste	Neroste	Neroste	Neroste
Chitosan Low	Neroste	Neroste	Roste	Neroste
Chitosan Medium	Neroste	Neroste	Roste	Neroste
Chitosan High	Neroste	Neroste	Roste	Neroste
Chitosan Dorapis	Neroste	Neroste	Neroste	Neroste
Chitosan Porta	Neroste	Neroste	Roste	Neroste
Chitosan Porta 1	Neroste	Neroste	Roste	Neroste

Roste – změna OD během kultivační doby o 1. Neroste – nebyla zaznamenána žádná změna OD oproti počáteční hodnotě



Obrázek 1: Růstová křivka kvasinky *Pichia fermentans* v živném médiu s peptonem



Obrázek 2: Růstová křivka kvasinky *Pichia fermentans* v živném médiu Sabourad bujon

ZÁVĚR

Antimikrobiální účinek chitosanu o střední molekulové hmotnosti v živném médiu s peptonem byl u všech kvasinek potvrzen v případě nejvyšší koncentrace, tedy u roztoku s 0,5 % chitosanu. Nižší koncentrace chitosanu (0,1 a 0,2 %) vykazovaly inhibiční účinek na růst kvasinek *Zygosaccharomyces bailii*, *Debaryomyces hansenii a Rhodotorula mucilaginosa*. Kvasinka *Pichia fermentans* byla jedinou, která byla schopna růstu v médiích s nižším obsahem chitosanu. Chitosan v případě této kvasinky způsobil alespoň prodloužení lag fáze růstu této kvasinky.

Výsledky experimentů potvrzují inhibiční účinek chitosanu na růst a množení kvasinek. Z výsledků vyplývá minimální použitelná koncentrace chitosanu 0,5 % kvůli možnému výskytu odolnějších druhů, jakým je např. testovaná *Pichia fermentrans*.

Během testování účinku pěti různých typů chitosanu na růst kvasinek v Sabouradově médiu opět potvrdil nižší inhibiční účinek chitosanu na růst kvasinky *Pichia fermentans*, která byla schopna růstu ve všech médiích, s výjimkou média obsahujícího chitosan Dorapis a bujónu označeného Kontrola 1, obsahujícího pouze přídavek kyseliny citronové. Tento přídavek pravděpodobně způsobil úplnou inhibici růstu vlivem snížení hodnoty pH. Další média způsobila různou míru prodloužení lag fáze růstu kvasinky, kde měl největší účinek chitosan Porta, schopný prodloužit lag fázi až na pětinásobek. Nejnižší účinek měl pak chitosan High, který byl schopen prodloužení lag fáze růstu kvasinky na trojnásobek. Ostatní tři kvasinky nebyly schopny růstu v jiném médiu, než v čistém bujónu Sabourad bez přidaných antimikrobiálně aktivních látek. To jednoznačně potvrzuje významný inhibiční účinek chitosanu na přežití a růst kvasinek.

LITERATURA:

1. Shepherd, R.; Reader, S.; Falshaw, A. Chitosan Functional Properties. *Glycoconj. J.* **1997**, *14* (4), 535–542.
2. Kou, S. (Gabriel); Peters, L. M.; Mucalo, M. R. Chitosan: A Review of Sources and Preparation Methods. *Int. J. Biol. Macromol.* **2021**, *169*, 85–94.

3. Kaur, S.; Dhillon, G. S. The Versatile Biopolymer Chitosan: Potential Sources, Evaluation of Extraction Methods and Applications. *Crit. Rev. Microbiol.* **2014**, *40* (2), 155–175.
4. Di Mario, F.; Rapanà, P.; Tomati, U.; Galli, E. Chitin and Chitosan from Basidiomycetes. *Int. J. Biol. Macromol.* **2008**, *43* (1), 8–12.
5. Dhillon, G. S.; Kaur, S.; Brar, S. K.; Verma, M. Green Synthesis Approach: Extraction of Chitosan from Fungus Mycelia. *Crit. Rev. Biotechnol.* **2013**, *33* (4), 379–403.
6. Ghormade, V.; Pathan, E. K.; Deshpande, M. V. Can Fungi Compete with Marine Sources for Chitosan Production? *Int. J. Biol. Macromol.* **2017**, *104*, 1415–1421.
7. Juneau, A.; Georgalas, A.; Kapino, R. Chitosan in Cosmetics: Technical Aspects When Formulating. *Cosmet. Toilet.* **2001**, *116* (8), 73–80.
8. Chen, H.; Pan, H.; Li, P.; Wang, H.; Wang, X.; Pan, W.; Yuan, Y. The Potential Use of Novel Chitosan-Coated Deformable Liposomes in an Ocular Drug Delivery System. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2016**, *143*, 455–462. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.03.061.
9. Rescignano, N.; Fortunati, E.; Armentano, I.; Hernandez, R.; Mijangos, C.; Pasquino, R.; Kenny, J. M. Use of Alginate, Chitosan and Cellulose Nanocrystals as Emulsion Stabilizers in the Synthesis of Biodegradable Polymeric Nanoparticles. *J. Colloid Interface Sci.* **2015**, *445*, 31–39.
10. Zhang, M.; Tan, T.; Yuan, H.; Rui, C. Compatible Polymers Insecticidal and Fungicidal. *J. Bioact. Compat. Polym.* **2003**, *18* (September 2003), 391–400.
11. Agulló, E.; Rodríguez, M. S.; Ramos, V.; Albertengo, L. Present and Future Role of Chitin and Chitosan in Food. *Macromol. Biosci.* **2003**, *3* (10), 521–530.
12. Shih, P. Y.; Liao, Y. T.; Tseng, Y. K.; Deng, F. S.; Lin, C. H. A Potential Antifungal Effect of Chitosan against Candida Albicansis Mediated via the Inhibition of SAGA Complex Component Expression and the Subsequent Alteration of Cell Surface Integrity. *Front. Microbiol.* **2019**, *10* (MAR), 1–14.

P6

Rostlinné extrakty – využití pro výrobu masných výrobků

Plant extracts - application in the production of meat products

Filip Hruška, Filip Beňo, Rudolf Ševčík

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Vzhledem k velmi nízké oxidační stabilitě masa je často nutné do masných výrobků přidávat antioxidanty. Proto se jako vhodná metoda nabízí aplikace některých přírodních rostlinných produktů, jako je například mouka ze semen luštěnin, která má potenciál kontrolovat proteolytickou degradaci. Rostlinné extrakty se získávají extrakcí bioaktivních látek z různých rostlinných zdrojů, jako jsou listy, semena, plody, kořeny, stonky a vedlejší produkty zemědělského průmyslu. Jedná se o bohaté zdroje bioaktivních molekul, jako jsou polyfenoly (flavonoidy, antokyany, kyselina benzoová, třísloviny, lignin, stilbeny, kyselina skořicová, fenolové látky), terpenoidy (karotenoidy, terpeny, triterpeny, fytosteroly, iridoidy), organické sloučeniny síry a alkaloidy. Tyto molekuly mají antioxidační a antimikrobiální účinky, a proto se hojně využívají jako potenciální přírodní konzervační látky, které částečně nebo zcela nahrazují syntetické konzervační látky. Použití rostlinných extraktů nahrazením syntetických přídatných látek tak pomáhá zlepšit funkčnost masných výrobků s „čistou etiketou“ a výrobě zdravějších masných výrobků bez použití syntetických přídatných látek nebo s jejich minimálním použitím.

Klíčová slova: *rostlinné extrakty, antioxidace, antimikrobiální, masné výrobky*

SUMMARY

Due to the very low oxidative stability of meat, it is often necessary to add antioxidants to meat products. Therefore, the application of certain natural plant products, such as legume seed flour, which has the potential to control proteolytic degradation, is suggested as a suitable method. Plant extracts are obtained by extracting bioactive substances from various plant sources such as leaves, seeds, fruits, roots, stems and by-products of the agricultural industry. These are rich sources of bioactive molecules such as polyphenols (flavonoids, anthocyanins, benzoic acid, tannins, lignin, stilbenes, cinnamic acid, phenolic substances), terpenoids (carotenoids, terpenes, triterpenes, phytosterols, iridoids), organic sulphur compounds and alkaloids. These molecules have antioxidant and antimicrobial effects and are therefore widely used as potential natural preservatives, partially or completely replacing synthetic preservatives. The use of plant extracts in place of synthetic additives thus helps to improve the functionality of 'clean label' meat products and to produce healthier meat products with little or no use of synthetic additives.

Keywords: *plant extracts, antioxidation, antimicrobial, meat products*

ÚVOD

Maso má nízký obsah endogenních antioxidantů a antimikrobiálních látek. Různé zpracovatelské operace, jako je ztráta strukturální integrity, zvyšování obsahu prooxidantů v mase (např. soli), zvětšování povrchu, působení přítomného kyslíku spolu se sníženou účinností endogenních enzymů (glutathionperoxidáza, kataláza, superoxid dismutáza) a neenzymatických složek (např. kyselina askorbová, glutathion, α-tokoferol, karnosin a kyselina lipoová) dále zvyšují jeho náchylnost ke změnám kvality (Bekhit et al., 2021). Rozsah oxidace lipidů a bílkovin, tvorbu volných radikálů a jejich škodlivý vliv na zdraví spotřebitelů lze významně ovlivnit přidáním antioxidantů. Vzhledem k velmi nízké oxidační stabilitě masa je často nutné do masných výrobků přidávat antioxidanty. Proto se jako vhodná metoda nabízí aplikace některých přírodních rostlinných produktů, jako je například mouka ze semen luštěnin, která má potenciál kontrolovat proteolytickou degradaci (Singh & Benjakul, 2018).

Dalším problémem, kromě antioxidační stability, je také to, že přítomnost lehce stravitelných a vysoce kvalitních živin, vlhkosti a nenasycených mastných kyselin činí z masa ideální potravinu pro kažení v důsledku mikrobiálního růstu, peroxidace lipidů a enzymatické autolýzy. Peroxidace lipidů vede ke vzniku několika škodlivých genotoxických a cytotoxických sloučenin v mase. Množení patogenních mikroorganismů v mase vede k tvorbě pachů, změně barvy, produkci plynů a slizu a škodlivých toxických aldehydů (Bekhit et al., 2021). Nejčastějšími patogenními mikroorganismy v mase, které vzbuzují obavy, jsou *Clostridium botulinum*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Clostridium perfringens, *Campylobacter jejuni* a *Listeria monocytogenes* (Iulietto et al., 2015).

OXIDAČNÍ ZMĚNY V MASE

Oxidační změny masa závisí na koncentraci a interakci mezi antioxidanty a prooxidanty, a také na přítomnosti sloučenin, které jsou náchylné k oxidaci – polynenasycené mastné kyseliny (PUFA), cholesterol, pigmenty a bílkoviny. Vzhledem k tomu, že oxidace lipidů se zvyšuje v přítomnosti železa (součást hemoglobinu) a soli, tak zejména ve zpracovaných masných výrobcích je považována za důležitý prvek podílející se na rozkladu lipidů. Dalšími faktory, které iniciují oxidaci lipidů, jsou kyslík, vlhkost, teplo a působení světla (Domínguez et al., 2019).

Autooxidace (též oxidace lipidů vzdušným kyslíkem) je proces, během kterého volné radikály přítomné v mase odebírají lipidům elektrony, což vede ke snížení kvality. Lipidy v mase jsou velmi náchylné k peroxidaci vlivem nedostatku antioxidantů v mase. Také vyšší koncentrace PUFA vede k náchylnější oxidaci lipidů. Celý proces oxidace lipidů probíhá ve třech krocích: iniciace, propagace a ukončení. Oxidace lipidů je iniciována interakcí molekulárního kyslíku s fosfolipidy a nenasycenými mastnými kyselinami, což vede ke vzniku peroxidů, hydroperoxidů a karbonylových sloučenin. Tyto hydroperoxidy jsou nestabilní a interakcí se stopovými prvky, aldehydy, alkoholy, ketony a kyselinami a vytvářejí nové volné radikály. Vzniklé sloučeniny pak negativně ovlivňují senzorické vlastnosti masa a mají také

vliv na ztrátu živin (Aminzare et al., 2019). Například běžnými konečnými produkty oxidačních reakcí lipidů jsou MDA (malondialdehyd) a HNE (4-hydroxynonenal). Tyto produkty oxidace pak mohou interagovat s bílkovinami a kyselinou listovou v gastrointestinálním traktu, což vede ke snížení absorpce a biologické dostupnosti těchto molekul. Další oxidací, která může probíhat v mase, je oxidace cholesterolu. Během ní vznikají produkty, jejichž konzumace je pojena s potenciálními zdravotními riziky, jako jsou neurodegenerativní onemocnění, rakovina, záněty, Alzheimerova choroba a ateroskleróza (Sottero et al., 2019).

Také bílkoviny podléhají oxidačním procesům, během kterých probíhají podobné řetězové reakce jako při oxidaci lipidů. Dochází při ní ke kovalentní modifikaci proteinů a/nebo nepřímé reakci se sekundárními vedlejšími produkty peroxidace lipidů. Je také iniciována interakcemi mezi dusíkovými a sirnými centry reaktivních aminokyselinových zbytků s lipidovými hydroperoxidy nebo produkty peroxidace lipidů, např. aldehydy nebo redukujícími cukry, a reakcí s volnými radikály. Oxidace bílkovin iniciuje několik strukturních změn v peptidovém řetězci, jako je například fragmentace postranního řetězce aminokyselin, fragmentace bílkovin, následná agregace a kovalentní mezimolekulární zesíťování bílkovin. Proteolýza a denaturace bílkovin masa a výrobků z něj vážně zhoršuje kvalitativní parametry masa, jako je chuť, barva, vaznost, tvorba karbonylových skupin, hydroperoxidů bílkovin, thiolových skupin a aromatické hydroxylace a zesíťování mezi bílkovinami, což vede ke špatné dostupnosti esenciálních aminokyselin, jako je cystein a tyrosin (Bhattacharya et al., 2017).

KONZERVANTY MASA

Degradaci masa lze potlačit použitím různých potravinářských přídatných látek, jako jsou antioxidační sloučeniny potlačující oxidační změny a antimikrobiální přídatné látky zabraňující růstu kazících se a potravinových patogenů během skladování. Podle nařízení Rady (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách jsou konzervační látky definovány jako látky, které prodlužují trvanlivost masa a masných výrobků tím, že je chrání před znehodnocením způsobeným mikroorganismy nebo brání růstu patogenních mikroorganismů. Celkový přístup přijatý ke konzervaci masa tedy zahrnuje kontrolu oxidace lipidů, odstranění kyslíku, sekvestraci kovových iontů a skladování ve vhodných obalech při nízkých teplotách. V přírodě je přítomno několik sloučenin, které vyvíjejí antioxidační aktivitu. Antioxidanty jsou molekuly, které inhibují oxidaci oxidovatelných biomolekul i v nízkých koncentracích, čímž prodlužují skladovací stabilitu výrobků tím, že je chrání před degradací kvality v důsledku oxidace těchto sloučenin. Masný průmysl používá syntetické konzervační látky ve velkém měřítku. S rostoucím povědomím o špatném vlivu konzumace těchto výrobků s obsahem syntetických konzervačních látek na zdraví spotřebitelů a s rostoucí preferencí přírodních nebo minimálně zpracovaných výrobků (zelený konzum) se stále více prosazuje používání přírodních konzervačních látek v mase pro prodloužení doby skladování těchto výrobků. Kromě toho se v masném průmyslu stále častěji nepreferuje využívání syntetických konzervačních látek z důvodu špatné stability, související karcinogenity a škodlivého vlivu na zdraví spotřebitelů (Kumar et al., 2013).

PŘÍRODNÍ KONZERVANTY

Používání přírodních sloučenin s konzervačními účinky je stále populárnější a spotřebitelé je stále více přijímají kvůli souvisejícím zdravotním přínosům, otázkám životního prostředí a rostoucí preferenci minimálně zpracovaných/přírodních produktů. Různé byliny, koření, ovoce a vedlejší ovocné produkty jsou bohatými zdroji různých bioaktivních sloučenin se silnými konzervačními účinky, protože mají antioxidační a antimikrobiální účinky. Tyto složky jsou klasifikovány jako obecně uznávané jako bezpečné (GRAS = Generally Recognized As Safe) a v potravinářském průmyslu se od pradávna používají ke zlepšení chuti, vzhledu, vůně a vůně. Z ovoce a zeleniny jsou bohatým zdrojem bioaktivních látek hrozny, citrusové plody, granátová jablka, mrkev, jablka, datle, jahody, banány a tmavě zelená listová zelenina. V ovoci a zelenině je přítomno více než $2 \cdot 10^5$ sloučenin, které mají antioxidační účinky, jako jsou polyfenoly (flavonoly, antokyany, flavanoly, kyselina benzoová, tanin, lignin, stilbeny, kyselina skořicová, fenolové kyseliny), terpenoidy (karotenoidy, terpeny, triterpeny, fytosteroly, iridoidy), organické síry (glukosinoláty, gama-glutamylcystein sulfoxidy) a alkaloidy (betalainy, kapsaicinoidy) (Jideani et al., 2021).

Rostlinné extrakty a jejich antioxidační stabilita

Antioxidační a antimikrobiální účinky rostlinných extraktů závisí na koncentraci bioaktivních látek. V rostlinných extraktech je přítomno několik bioaktivních sloučenin, z nichž polyfenoly tvoří hlavní aktivní skupinu zodpovědnou za antioxidační a antimikrobiální účinky. Obecně se polyfenolické sloučeniny dělí do 4 skupin, a to fenolové kyseliny (kyselina kávová, gallová a rozmarýnová), flavonoidy (katechin, kaempferol a kvercetin), fenolové dipterany (karnosol a kyselina karnosová) a těkavé silice (mentol, eugenol, thymol, karnosol a karvakrol) (Nikmaram et al., 2018). Polyfenolické sloučeniny s alespoň jedním aromatickým kruhem s navázanými dvěma hydroxylovými skupinami, které vznikají jako sekundární rostlinné metabolity, jsou v rostlinách široce zastoupeny. Tyto sloučeniny mají silný antioxidační potenciál tím, že vychytávají volné radikály, inhibují enzymy zodpovědné za tvorbu volných radikálů, chelatují kovové ionty (nejlépe železo a měď), inhibují oxidované meziprodukty, chrání antioxidanty (kyselinu askorbovou a vitamin E) a aktivují antioxidační enzymy, jako je kataláza a superoxiddismutáza. Antioxidační potenciál rostlinného extraktu závisí na koncentraci účinných látek, parametrech zpracování, teplotě a pH (Efenberger-Szmechtyk et al., 2021). Použitím vhodných kombinací rostlinných extraktů by bylo možné dosáhnout požadovaných konzervačních účinků s minimálním dopadem na organoleptické vlastnosti masných výrobků. Ze všech senzorických atributů jsou vůně a chuť považovány za zásadní při určování přijatelnosti výrobků pro spotřebitele, proto by tyto extrakty měly být do masných výrobků přidávány v optimálním množství nebo v přípustných mezích (Awad et al., 2022).

Spotřebitelé proto v poslední době odmítají syntetické antioxidanty kvůli jejich údajné nebo potenciální toxicitě. Přírodní antioxidanty jsou heterogenní skupinou látek s různými chemickými vlastnostmi, které se ve velké míře vyskytují v rostlinách a matricích rostlinného původu. Jak se hojně uvádí v odborné literatuře, tak antioxidanty se přidávají do potravin s cílem oddálit nebo inhibovat oxidaci působením na iniciaci nebo šíření oxidačních řetězových reakcí. Je zajímavé, že několik prací uvádí, že různé rostlinné extrakty, které přispívají

ke zdravotnímu stavu spotřebitelů, mohou mít dokonce silnější antioxidační kapacitu než syntetické antioxidanty. V důsledku toho mohou přírodní antioxidanty díky své aktivitě chránit i biologicky důležité buněčné složky před oxidačními procesy způsobenými reaktivními formami kyslíku (ROS = reactive oxygen species) (Oswell et al., 2018; Lin et al., 2018).

Aby však měly tyto sloučeniny šanci na implementaci jako přírodní antioxidanty do masa a masných výrobků, neměly by negativně ovlivňovat senzorické vlastnosti a musí být aktivní v nízkých koncentracích [22]. Dále by měly být relativně levné a dostatečně stabilní během zpracování a v podmínkách trvanlivosti. Z hlediska potravinářské technologie je totiž skutečný profil přírodních antioxidantů hluboce ovlivněn jejich vnitřní povahou, a především podmínkami zpracování a skladování. Polyfenoly a silice jsou hlavními frakcemi/bioaktivními složkami nalezenými v rostlinách, které lze využít v masném průmyslu. Tyto sloučeniny lze získat z různých částí rostlin, jako jsou semena, listy a plody (Tabulka 1). Například černý pepř (*Piper nigrum* L.) je koření, které se ve velké míře používá po celém světě a pěstuje se hlavně v tropických oblastech (Alirezalu et al., 2019).

Tabulka 1: Různé integrace rostlinných extraktů do masa a masných výrobků (Awad et al., 2022)

Rostlinný extrakt	Maso/masný produkt	Dávkování	Podmínky skladování	Hlavní efekt
černý pepř	čerstvé vepřové maso	0,1 a 0,5 % (v/v)	4 °C/9 dnů	RCO, RLPO
směs esenciálních olejů	skopové nugety	0,25; 0,50; 0,75 %	4 °C/30 dnů	RLO, RRO
semena guarany	vepřové placičky	250, 500, 1000 mg/kg	2 °C/18 dnů	RCO, RLPO
	jehněčí burgery	250 mg/kg	2 °C/18 dnů	RCO, RLPO
naditec jehnědokvětý - listy	vepřové placičky	0,05 a 0,1 %	4 °C/10 dnů	RLO, RCO
květy marteje jednokvěté	vepřové placičky	250, 500, 1000 mg/kg	2 °C/18 dnů	RCO, RLPO
moringa olejodárná	kuřecí nugety	1 a 2 %	4 °C/20 dnů	RCO, RLO, RRO
zelený čaj	šunka	1 %	2 °C/21 dnů	RCO
Oregano	jehněčí burger	3,32; 17,79 a 24,01 ml/kg	-18 °C/120 dnů	RLO, RCO
	šunka	1% esenciální olej – extrakt	2 °C/24 dnů	RRO
Šalvěj	vepřový párek	0,05; 0,075 a 0,1 µl/g	3°C /8 dnů	RLO, RRO

RLO = snížená oxidace lipidů (TBAR); RLPO = snížená oxidace lipidů a bílkovin; RCO = snížená oxidace barvy; RRO = snížená senzorická degradace

Použití bioaktivních sloučenin přirozeně se vyskytujících v rostlinách může zlepšit trvanlivost masa a masných výrobků zpomalením progrese oxidačních procesů, změn barvy a ztráty senzorické kvality. Jak uvádí Zhang et al. (2016), tak např. esenciální olej z černého pepře (0,1 a 0,5 %) snížila tvorbu metmyoglobinu a další produkty oxidace během skladování vepřového masa. Podobné výsledky publikovali také Kumar et al. (2018), kde přídavek 0,25 % různých esenciálních olejů významně snížila oxidaci lipidů skopových nugetů během skladování (30 dnů), a také pozitivně ovlivnila senzorické vlastnosti. Stabilita masných

výrobků byla také zlepšena pomocí extraktu semen guarany (250, 500 a 100 mg/kg), kdy došlo ke snížení ztrát červené barvy a nižší tvorbě oxidačních produktů lipidů i proteinů ve vepřových placičkách (Pateiro et al., 2018). V případě kuřecích nugetů např. Madane et al. (2019), které byly skladování při 4 °C po dobu 20 dnů, přídavek květu *Moringa oleifera* snížil také produkci oxidace lipidů po pěti dnech skladování pro obě použité koncentrace (1,0 a 2,0 %). Senzorická analýza navíc také ukázala, že obě koncentrace byly vhodné pro uchování kuřecích nugetů až do konce skladování. Avšak pouze vzorky zpracované s nejvyšší koncentrací extraktu vykazovaly lepší zachování barvy než kontrolní nugety.

ZÁVĚR

Použití rostlinných extraktů může prodloužit trvanlivost a zlepšit zdravotní vlastnosti čerstvého masa a masných výrobků. Nejrelevantnějšími sloučeninami jsou polyfenoly a esenciální oleje, které lze nalézt v koření (černý pepř, oregano a šalvěj), listech (zelený čaj a guarana), semenech (guarana) a květech (bubenský květ). Jejich význam v masných výrobcích může zejména snížit oxidační procesy, negativní barevné změny, a také mohou způsobit zachování organoleptických vlastností ve srovnání s konvenčními vzorky, kde se požívají syntetické konzervanty. Další výhodou použití rostlinných extraktů je pohled spotřebitelů, kteří se na tyto látky dívají pozitivně oproti syntetickým.

PODĚKOVÁNÍ

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A1_FPBT_2023_004.

LITERATURA:

1. Bekhit A.E.D.A., Holman B.W.B., Giteru S.G., Hopkins D.L. 2021. Total volatile basic nitrogen (TVB-N) and its role in meat spoilage: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 109, 280–302.
2. Iulietto M.F., Sechi P., Borgogni E., Cenci-Goga B.T. 2015. Meat spoilage: A critical review of a neglected alteration due to ropy slime producing bacteria. *Italian Journal of Animal Science*, 1, 4011.
3. Singh A., Benjakul S. 2018. Proteolysis and its control using protease inhibitors in fish and fish products: A review. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*, 17, 496–509.
4. Domínguez R., Pateiro M., Gagaoua M., Barba F.J., Zhang W., Lorenzo J. M. 2019. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, 8, 429.
5. Aminzare M., Hashemi M., Ansarian E., Bimkar M., Azar H.H., Mehrasbi M.R., Afshari A. 2019. Using natural antioxidants in meat and meat products as preservatives: A review. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 7, 417–426.
6. Sottero B., Leonarduzzi G., Testa G., Gargiulo S., Poli G., Biasi F. 2019. Lipid oxidation derived aldehydes and oxysterols between health and disease. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121, 1700047.
7. Bhattacharya D., Kandeepan G., Vishnuraj M.R. 2017. Protein oxidation in meat and meat products—A review. *Journal of Meat Science and Technology*, 4, 44–52.
8. (ES) č. 1333/2008 - Nařízení Evropského parlamentu a Rady.
9. Birla R., Malav O., Wagh R., Mehta N., Kumar P., Chatli M. 2019. Storage stability of pork emulsion incorporated with arjuna (*Terminalia arjuna*) tree bark extract. *International Journal of Livestock Research*, 9, 95-109.

10. Jideani A.I.O., Silungwe H., Takalani T., Omolola A.O., Udeh H.O., Anyasi T.A. 2021. Antioxidant-rich natural fruit and vegetable products and human health. *International Journal of Food Properties*, 24, 41–67.
11. Nikmaram N., Budaraju S., Barba F.J., Lorenzo J.M., Cox R.B., Mallikarjunan K., Roohinejad S. 2018. Application of plant extractsto improve the shelf-life, nutritional and health-related properties of ready-to-eat meat products. *Meat Science*, 145, 245–255.
12. Awad A.M., Kumar P., Ismail-Fitry M.R., Jusoh S., Aziz M.F.A., Sazili A.Q. 2022. Overview of plant extracts as natural preservatives in meat. *Journal of Food Porcessing and Preservation*, 46, e16796.
13. Efenberger-Szmechtyk M., Nowak A., Czyzowska A. 2021. Plant extracts rich in polyphenols: Antibacterial agents and natural preservatives for meat and meat products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61, 149–178.
14. Oswell N.J., Thippareddi H., Pegg R.B. 2018. Practical use of natural antioxidants in meat products in the U.S.: a review. *Meat Science*, 145, 469-479.
15. Lin M., Zhang L., Chen X. 2018. Bioactive flavonoids in Moringa oleifera and their health-promoting properties. *Journal of Functional Foods*, 47, 469-479.
16. Alirezalu K., Hesari J., Nemati Z., Munekata P.E.S., Barba F.J., Lorenzo J.M. 2019. Combined effect of natural antioxidants and antimicrobial compounds during refrigerated storage of nitrite-free frankfurter-type sausage. *Food Research International*, 120, 839-850.
17. Zhang J, Wang Y., Pan D.D., Cao J.X., Shao X.F., Chen Y.J., Sun Y.Y., Ou C.R. 2016. Effect of black pepper essential oil on the quality of fresh pork during storage. *Meat Science*, 117, 130-136.
18. Kumar S., Mendiratta S.K., Agrawal R.K., Sharma H., Singh B.P. 2018. Anti-oxidant and anti-microbial properties of mutton nuggets incorporated with blends of essential oils. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 821-832.
19. Pateiro M., Vargas F.C., Chincha A.A.I.A., Sant'Ana A.S., Strozzi I., Rocchetti G., Barba F.J., Domínguez R., Lucini L., do Amaral Sobral P.J. 2018. Guarana seed extracts as a useful strategy to extend the shelf life of pork patties: UHPLC-ESI/QTOF phenolic profile and impact on microbial inactivation, lipid and protein oxidation and antioxidant capacity. *Food Research International*, 114, 55-63.
20. Madane P., Das A.K., Pateiro M., Nanda P.K., Bandyopadhyay S., Jagtap P., Barba F.J., Shewalkar A., Maity B., Lorenzo J.M. 2019. Drumstick (*Moringa oleifera*) flower as an antioxidant dietary fibre in chicken meat nuggets. *Foods*, 8, 307.

P7

HODNOTENIE OBSAHU SOLI A SENZORICKÉHO VNÍMANIA PARENÝCH SYROV SLOVENSKEJ PRODUKCIE

EVALUATION OF SALT CONTENT AND SENSORY PERCEPTION OF STEAMED CHEESES OF SLOVAK PRODUCTION

Silvia Jakabová, Jozef Golian, Lucia Benešová, Jozef Čapla, Jozef Čurlej, Lucia Zeleňáková, Peter Zajác

Ústav potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

ABSTRAKT

Príspevok sa zameriava na obsah soli v parených neúdených a údených syroch zo slovenskej produkcie, ako aj senzorické hodnotenie týchto výrobkov. Pozorovala sa veľká variabilita soli v rámci rovnakého typu syra. Namerané údaje boli porovnané s údajmi o obsahu soli uvedenými na etiketách obalov syrov, pričom u 59% vzoriek bol stanovený obsah soli vyšší ako deklarovaný na etikete výrobkov. U 24% vzoriek bol obsah soli vyšší ako 2,5 g/100g výrobku. Obsah soli pozitívne koreloval so senzorickými vlastnosťami, výraznejšie však s parametrom chuti a vône (p=0,98). Nameraný obsah soli v parených syroch sa pohyboval od 1,14 g/100 g do 2,90 g/100 g výrobku. Z celkového hodnotenia bol ako najlepší vybraný syr D1.3 Pareničky neúdené (16,75±0,43 bodov), nasledovaný údenými parenými syrmi D2.1 (Ovčia parenica údená) a D2.5 (Pareničky údené) s celkovým počtom získaných bodov 16,00±0,71 a 16,00±1,22. Najnižšie skóre pri senzorickom hodnotení získal ovčí údený parený syr D2.8 (9.00±2.45 bodov).

Kľúčové slová: *senzorická analýza, soľ, parené syry*

ABSTRACT

The paper investigates the salt content in steamed non-smoked and smoked cheeses from Slovak production as well as the sensory evaluation of the products. A large variation of salt within the same type of cheese was observed. The data measured were compared with the data on the salt content indicated on the cheese packages, while in 59% of the samples the salt content was determined to be higher than declared on the product label. In 24% of the samples, the salt content was higher than 2.5 g/100 g original product. Salt content positively correlated with sensory properties, but more significantly with the parameters of taste and aroma (p=0.98). The measured salt content in steamed cheeses ranged from 1.14 g/100g to 2.90 g/100g of the product. From the overall evaluation, the best selected cheese was D1.3 Pareničky neúdené (16.75±0.43 points), followed by smoked steamed cheeses D2.1 (Ovčia parenica údená) and D2.5 (Pareničky údené) with 16.00±0.71 and 16.00±1.22 points, respectively. The lowest score in the sensory evaluation was obtained by sheep's smoked steamed cheese D2.8 (9.00±2.45 points).

Key words: *sensory analysis, salt content, steamed cheeses*

ÚVOD

Chlorid sodný (NaCl), tiež známy ako soľ, je základnou zlúčeninou, ktorú naše telo využíva na vstrebávanie a transport živín, udržiavanie krvného tlaku, udržiavanie správnej rovnováhy tekutín, prenos nervových signálov a kontrakciu a relaxáciu svalov. Vysoký príjem soli má aj škodlivé účinky na zdravie, pretože zvyšuje krvný tlak, riziko srdcovo-cievnych ochorení, ochorení obličiek, ako aj riziko rakoviny žalúdka a osteoporózy a nepriamo súvisí s obezitou (Hashem et al., 2014; He & MacGregor, 2010; He & MacGregor,2011; Devine et al., 1995; He et al., 2008). Soľ je dôležitou zložkou syra, ktorá má tri hlavné funkcie: pôsobí ako konzervačný prostriedok, priamo prispieva k aromatickým vlastnostiam a je zdrojom sodíka v strave. Spolu s požadovaným pH, aktivitou vody a redoxným potenciálom pomáha soľ chrániť syr tým, že minimalizuje degradáciu a zabráni rastu patogénov (Guinee, Carić & Kalab, 2004). Everett & Auty (2008) uvádzajú, že soľ obmedzuje pôsobenie baktérií v syre a zároveň má sekundárny účinok zvýraznenia chuti. Slanosť je jednou z najdôležitejších chuťových charakteristík syra a priamo koreluje s požiadavkami zo strany spotrebiteľov (Kilcast & den Ridder, 2007; Skeie et al., 2014). Slaná chuť je veľmi preferovaná mnohými ľuďmi a slanosť je považovaná za jednu zo štyroch základných chutí. Obsah soli výrobku sa môže koncentrovať v dôsledku postupnej straty vody a zvýšenia obsahu sušiny. Tento efekt bol pozorovaný viacerými autormi (Estrada et al., 2019; Illescas-Chavez &Vélez-Ruiz, 2009; Santapaola et al., 2013). NaCl ovplyvňuje dozrievanie syra hlavne svojimi účinkami na aktivitu vody. Medzi hlavné účinky soli patria kontrola rastu a aktivity mikroorganizmov; kontrola rôznych enzýmových aktivít v syre; syneréza tvarohu a tým aj zníženie vlhkosti syra, čo taktiež ovplyvňuje vyššie uvedené; a fyzikálne zmeny v bielkovinách syra, ktoré ovplyvňujú textúru syra, rozpustnosť bielkovín a pravdepodobne aj konformáciu bielkovín (Fox et al., 2004).

V našom príspevku sa zameriavame na neúdené a údené parené syry z kravského a ovčieho mlieka zo Slovenskej produkcie, ktoré boli súčasťou súťažného hodnotenia syrov Memoriálu doc. Gyarmatyho 2023, pričom cieľom bolo hodnotenie obsahu soli vo vzťahu k ich senzorickému hodnoteniu ako aj porovanie obsahu soli uvádzaného výrobcami so stanovenými obsahmi soli v hodnotených výrobkoch.

MATERIÁL A METODIKA

Experimentálny set vzoriek pozostával zo vzoriek čerstvých syrov z kravského, ovčieho a kozieho mlieka, ktoré sú charakterizované v tabuľke 1.

Tabuľka 1: Charakteristika vzoriek parených syrov – výživové údaje deklarované na obale výrobkov

Vzorka	Charakteristika syra	Deklarovaný obsah sušiny (%)	Deklarovaný obsah tuku (g/100g)	Deklarovaný obsah bielkovín (g/100g)	Deklarovaný obsah soli (g/100g)
Parené syry neúdené					
D1.1	Ovčia parenica neúdená	N	24,0	21,0	1,06
D1.2	Nite ovčie	min. 46,0	min. 45% v sušine	N	max. 2,5%
D1.3	Pareničky neúdené	min 49,0	20,0	26,0	1,30
D1.4	Kravská parenica neúdená	min. 49,5	22,9	21,9	1,45
D1.5	Ovčie nite	min. 48,0	24,2	19,0	0,066
D1.6	Kravské nite	min. 49,5	22,9	21,9	1,45
D1.7	Tekovský salámový syr neúdený	min. 53,5	26,0	25,0	1,60
D1.8	Roľnícke cverny (polomäkký, nezrejúci, parený, solený syr)	N	N	N	N
Parené syry údené					
D2.1	Ovčia parenica údená	neuvedené	26,0	23,0	1,06
D2.3	Bačove uzlíky údené	min. 41,0	min. 45% v sušine	N	max. 2,5%
D2.4	Parený ovčí syr údený	min. 41,0	min. 45% v sušine	N	max. 2,5%
D2.5	Pareničky údené	min. 49,0	20,0	26,0	1,30
D2.6	Oštiepok údený	min. 51,0	24,0	22,0	1,70
D2.7	Kravská parenica údená	min. 49,5	22,9	21,9	1,12
D2.8	Ovčí údený syr	min. 54,1	27,9	20,2	1,30
D2.9	Kravské nite údené	min. 49,5	22,9	21,9	1,45
D2.10	Tekovský salámový syr údený	min. 45,0	26,0	25,0	1,60

Pozn.: N - neuvedené

Analýza obsahu soli bola realizovaná na vzorkách parených syrov neúdených a údených. Do 50 ml PP centrifugačných skúmavkách sme navážili 2,00 ± 0.01 g vzoriek syrov, pridalo sa 30 ml demineralizovanej vody (40°C) a pomocou dezintegrátora pri otáčkach do 12 000 rpm sa vzorka homogenizovala 30 s. Výsledný homogenizát sa kvantitatívne presunul a doplnil v odmernej banke na objem 100 ml deionizovanou vodou. Z homogenizátu sa odobralo cca 30 ml do centrifugačnej skúmavky a vzorka sa odstredila 2 min pri otáčkach 5000 rpm. Supernatant sa priamo analyzoval na obsah soli (na základe koncentrácie chloridov) pomocou coulometrického titrátora chloridov M 926 (O.K. Service, BioPro). Objem dávkovanej vzorky bol 0,5 ml a výsledky boli vyjadrené v mg Cl^-/l a prepočítané na obsah NaCl v 100g syra.

Senzorickú analýzu vykonal panel hodnotiteľov (10 hodnotiteľov). Vzorky sa hodnotili chladené na 10 °C. Bodová škála pre číselné hodnotenie organoleptických vlastností bola s rozsahom 0 – 10 bodov (0 – nevyhovujúci, neštandardný; 10 – vynikajúci, nadpriemerný). Senzorická skupina hodnotila atribúty: vzhľad a konzistencia, chuť a vôňa. V závere sa body pre obidve skupiny atribútov spočítali do celkového hodnotenia (maximum 20 bodov).

Sumarizácia údajov a príprava tabuliek sa realizovala v programe Excel (Microsoft, Redmond, WA, USA), na štatistickú analýzu sa použil program Past4.03 (Hammer et al., 2001)

pričom na štatistické vyhodnotenie sme použili Shapiro – Wilkov test (test normality dát), Linear r (Pearson) test korelácie sledovaných parametrov a analýzu hlavných komponentov (PCA).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Napriek rovnakej kategórie výrobku sa kvalita syrov môže líšiť u jednotlivých producentov (Zeleňáková et al., 2020; Zajác et al., 2019). Obsah soli je významným parametrom vlastností syrov, vplývajúcim na kvalitu produktu a jeho senzorické charakteristiky. Tento parameter však nie všetci výrobcovia zaradený do nášho experimentu uvádzajú na balení výrobku (tab. 1). Obsah soli je obmedzený legislatívou Slovenskej republiky na 2,5 g/100 g (MH SR, 2015). Testom normality sme zistili neparametrické rozdelenie dát (pre $p<0,05$). Priemerné hodnoty pre nameraný obsah soli a senzorické parametre ako aj smerodajné odchýlky uvádzame v tabuľke 2.

Tabuľka 2: Sumárne štatistické hodnotenie obsahu soli (g/100 g) a senzorického hodnotenia parených syrov (body)

	Vzhľad a konzistencia	Chuť a vôňa	Celkové senzorické hodnotenie	Nameraný obsah soli
	Body	Body	body	g/100g
N	66	66	66	51
Min	3	2	6	1,14
Max	10	9	17	2,90
Priemer	7,35	6,74	14,09	2,06
SD	1,25	1,52	2,45	0,53

Ako z tabuľky vyplýva, variabilita hodnotenia senzorických parametrov ako aj obsahu soli bola vysoká. Pri hodnotení obsahu soli u vzoriek parených syrov neúdených vs. údených sme aplikovali Mann-Whitney párový neparametrický test, ktorým sme však zistili, že medzi porovnávaným súborom vzoriek nebol štatisticky významný rozdiel ($p=0,568$). V tabuľke 3 uvádzame obsahy soli za jednotlivé vzorky parených syrov neúdených a údených.

Tabuľka 3: Výsledky stanovenia obsahu soli a senzorického hodnotenia parených syrov

Vzorka	Nameraný obsah soli g/100g	Vzhľad a konzistencia body	Chuť a vôňa body	Celkové senzorické hodnotenie body
D1.1	1,88±0,04	8,00±0,71	7,50±0,87	15,50±0,87
D1.2	2,86±0,05	8,00±0,00	5,50±1,80	13,50±1,80
D1.3	1,28±0,02	8,75±0,43	8,00±0,00	16,75±0,43
D1.4	1,39±0,01	7,25±0,83	6,25±0,83	13,50±1,66
D1.5	2,37±0,02	7,75±0,43	7,00±1,00	14,75±0,83
D1.6	1,78±0,02	7,75±0,43	7,50±0,50	15,25±0,83
D1.7	2,34±0,02	5,50±0,50	5,50±0,50	11,00±0,71
D1.8	2,78±0,01	7,75±0,43	7,75±0,83	15,50±0,87
D2.1	2,52±0,03	7,75±0,43	8,25±0,43	16,00±0,71
D2.3	2,01±0,01	7,75±0,43	6,50±0,87	14,25±0,83
D2.4	1,84±0,03	7,50±0,87	7,75±1,09	15,25±1,30
D2.5	1,17±0,03	8,75±0,83	7,25±0,83	16,00±1,22
D2.6	1,41±0,03	7,00±0,71	6,50±0,87	13,50±1,50
D2.7	2,15±0,02	6,00±0,00	4,00±1,87	10,00±1,87
D2.8	2,04±0,02	4,33±1,25	4,67±1,25	9,00±2,45
D2.9	2,78±0,05	7,00±0,71	7,25±0,83	14,25±1,48
D2.10	2,39±0,01	7,33±1,25	7,00±0,82	14,33±2,05

Pozn.: výsledky sú vyjadrené ako priemerné hodnoty ± smerodajná odchýlka

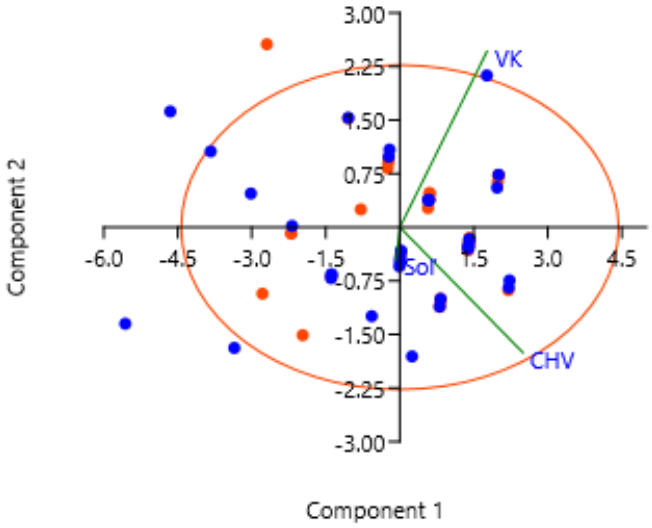
Vo výrobe syra je soľ vysoko dôležitá z niekoľkých dôvodov, vrátane mikrobiologickej kontroly prostredníctvom znižovania aktivity vody, účasti na syneréze syra a rovnováhy minerálnych látok, regulácie biochemických procesov a prispievania k chuti (McSweeney et al., 2017). Z hodnotenia nameraných obsahov soli v parených syroch boli zistené prekročené limitné obsahy soli v syroch u 24% vzoriek. Z neúdených parených syrov mala najvyšší obsah soli vzorka D1.2 (Nite ovčie), u ktorej sme stanovili o 14,4% vyšší obsah soli ako legislatívou stanovené prípustné hodnoty. Z údených parených syrov bol najvyšší obsah soli zistený u vzorky D2.9 (Kravské nite údené), kde bol obsah soli prekročený o 11,2%. Zaujímavé bolo tiež porovnanie deklarovaných obsahov soli na etikete výrobku a skutočne nameraných obsahov soli. Zistilo sa, že stanovený obsah soli v syroch bol u 59% vzoriek vyšší ako obsah uvedený na etiketách týchto výrobkov. Vo viacerých prípadoch sme stanovili viac ako 20-130% vyšší obsah soli ako bolo deklarované na obale výrobkov.

Tabuľka 4: Korelácia senzorických vlastností a obsahu soli v parených syroch

	Chuť a vôňa	Soľ
Vzhľad a konzistencia	6.94E-07	0.14009
Chuť a vôňa		0.97957

Korelácia obsahu soli so senzorickými vlastnosťami bola pozitívna a logicky vyššia s parametrom Chuť a vôňa, čo naznačuje, pozitívny vplyv obsahu soli na hodnotenie senzorických vlastností (tab. 4).

Ako multivariačná analýza zo sledovaných senzorických parametrov a obsahu soli sa použila analýza hlavných komponentov (PCA), pričom výsledkom je biplot PCA (Obrázok 1). PCA mapa zobrazuje súčasne naše pozorovania, ako aj skúmané premenné v jednom zobrazení (Jakabová et al., 2021). Súradnice x a y biplotu vysvetľujú 95,13% celkovej variácie pozorovaní, pričom komponent 1 zahŕňa 75,36% a komponent 2 predstavuje 19,77% variácie. V biplote bol obsah soli najvýznamnejšou premennou pri senzorickom hodnotení syrov. Konzistencia a vzhľad a chuť a vôňa paradoxne v PCA biplote nepredstavujú parametre s najvýznamnejším vplyvom. Biplot však ukazuje, že jednotlivé syry zo skupiny neúdených (modré body) a údených (červené body PCA mapy) nie je možné grupovať na základe uvedených premennných.



Obrázok 1: PCA biplot senzorických atribútov

Pozn.: CHV – chuť a vôňa

VK – vzhľad a konzistencia

ZÁVER

Pre posudzovanie vlastností syrov sú chemické a senzorické parametre jednými z východiskových údajov o produkte. Pri hodnotení parených syrov bez ohľadu na typ použitého mlieka sme zistili variabilitu v obsahu soli z dôvodu aplikácie ochucujúcich zložiek. Významným zistením bol nesúlad medzi údajom o obsahu soli uvádzaným výrobcom a skutočne stanoveným obsahom soli z coulometrickej titrácie. Väčšinou sa jednalo o zistenie vyšších obsahov soli ako boli koncentrácie uvádzané pre informovanie spotrebiteľov. Senzorické vnímanie jednotlivých čerstvých syrov bolo ovplyvnené chemickým parametrom obsahom soli, čo potvrdila pozitívna korelácia parametra Chuť a vôňa vs. obsah soli.

POĎAKOVANIE

Analýzy a príspevok vznikli s finančnou podporou projektu Agentúry pre podporu výskumu a vývoja – projekt č. APVV-22-0402, projektu VEGA č. 1/0239/21.

LITERATÚRA

1. Devine, C. A., Dick, I., Kerr, D., Prince, R. (1995). A longitudinal study of the effect of sodium and calcium intakes on regional bone density in postmenopausal women'. Am. J. Clin. Nutr, 62, 740-45.
2. Estrada, O., Ariño, A., & Juan, T. (2019). Salt distribution in raw sheep milk cheese during ripening and the effect on proteolysis and lipolysis. Foods, 8(3), 100.
3. Everett, D. W., & Auty, M. A. (2008). Cheese structure and current methods of analysis. International Dairy Journal, 18(7), 759-773.

4. Fox, P. F., McSweeney, P. L., Cogan, T. M., & Guinee, T. P. (Eds.). (2004). Cheese: Chemistry, physics and microbiology, Volume 1: General aspects. Elsevier.
5. Guinee, T. P., Carić, M., & Kalab, M. (2004). Pasteurized processed cheese and substitute/imitation cheese products. In Cheese: chemistry, physics and microbiology (Vol. 2, pp. 349-394). Academic Press.
6. Hammer, Ø., & Harper, D. A. (2001). Past: paleontological statistics software package for educaton and data anlysis. Palaeontologia electronica, 4(1), 1.
7. Hashem, K. M., He, F. J., Jenner, K. H., & MacGregor, G. A. (2014). Cross-sectional survey of salt content in cheese: a major contributor to salt intake in the UK. BMJ open, 4(8).
8. He, F. J., & MacGregor, G. A. (2010). Reducing population salt intake worldwide: from evidence to implementation. Progress in cardiovascular diseases, 52(5), 363-382.
9. He, F. J., & MacGregor, G. A. (2011). Salt reduction lowers cardiovascular risk: meta-analysis of outcome trials. The Lancet, 378(9789), 380-382.
10. He, F. J., Marrero, N. M., & MacGregor, G. A. (2008). Salt intake is related to soft drink consumption in children and adolescents: a link to obesity?. Hypertension, 51(3), 629-634.
11. Illescas-Chavez, E., & Vélez-Ruiz, J. F. (2009). Effect of the salting process on the mass transfer kinetics of manchego-type cheese. International Journal of Food Properties, 12(4), 791-807.
12. Jakabová, S., Benešová, L., Kročko, M., Zajác, P., Čapla, J., Partika, A., Golian, J., Štefániková, J. (2021). Evaluation of nutritional composition and sensory properties of cheese, cheese spreads and traditional butter from slovak production. Slovak Journal of Food Sciences, 15, 285-295.
13. Kilcast, D., & Den Ridder, C. (2007). Sensory issues in reducing salt in food products. In Reducing salt in foods (pp. 201-220). Woodhead publishing.
14. McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cotter, P.D., Everett, D.W., 2017. Cheese: chemistry, physics and microbiology (4th edn.). London, UK: Elsevier Academic Press.
15. MH SR. Ministry of Health of the Slovak Republic (2015). Decree No. S08975-OL-2014 laying down requirementsfor edible salt in foodstuffs. Journal of the Ministry of Health of the Slovak Republic, 61, 50-57.
16. Santapaola, J., Maldonado, S., & Medina, J. L. (2013). NaCl diffusion kinetics in dry salting of goat cheese. Journal of Food Engineering, 118(2), 172-177.
17. Skeie, S., Ardö, Y., Everett, D.W. (2014). Salt in cheese flavour. In: The Importance of NaCl in cheese Manufacture and Ripening of Cheese. Special Issue of the International Dairy Federation SI-1401, IDF Brussels, 42–45.
18. Zajác, P., Martišová, P., Čapla, J., Čurlej, J., & Golian, J. (2019). Characteristics of textural and sensory properties of oštiepok cheese. Potravinarstvo, 13(1).
19. Zeleňákova, L., Ševčík, M., Jakabová, S., Zajác, P., Čanigová, M., Habánová, M., & Wyka, J. (2020). Measuring and comparing the water activity and salt content in Parenica cheeses made by traditional and industrial technology. Roczniki Państwowego Zakładu Higieny, 71(3).

KONTAKTNÁ ADRESA

prof. Ing. Jozef Golian, Dr. Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovenská republika, jozef.golian@uniag.sk

P8

Optimalizace 3D tisku potravin z pastovitých hmot

Optimization of 3D printing of food from pasty materials

Štěpán Janoud, Filip Hruška, Rudolf Ševčík

Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6 - Dejvice

SOUHRN

Tato práce zkoumá využití 3D tisku v potravinářském průmyslu s důrazem na potřebu přesných tiskových parametrů a charakteristik materiálu. Práce zahrnuje úpravu 3D tiskárny pro extruzi potravin a experimentování s vzorkem odpalovaného těsta. Experiment prokázal, že s adekvátními úpravami a pečlivým nastavením tisku je možné dosáhnout vysoké přesnosti tisku potravinářských materiálů. Tyto výsledky nabízejí perspektivu pro další výzkumy v oblasti potravinářského 3D tisku a poskytují základ pro budoucí inovace v této oblasti.

Klíčová slova: *3D-tisk, potraviny, extruder, těsto*

SUMMARY

This work examines the use of 3D printing in the food industry with an emphasis on the need for accurate printing parameters and material characteristics. The work includes modifying a 3D printer for extruding food and experimenting with a sample of fired dough. The experiment proved that with adequate adjustments and careful print settings, it is possible to achieve high printing accuracy of food materials. These results offer a perspective for further research in the field of food 3D printing and provide a basis for future innovations in this field.

Keywords: *3D-print, foods, extruder, dough*

ÚVOD DO PROBLEMATIKY

V dnešní době je technologie 3D tisku široce rozvíjená a hojně využívaná a představuje velkou příležitost pro potravinářský průmysl, kde může tato technologie sehrát důležitou úlohu při navýšení variability výroby. Uplatnění nalézá při výrobě různých tvarů potravin, které nelze vyrobit jinou cestou, dále také při náhradě některých druhů potravin a v neposlední řadě může nalézt využití jak v profesionálním prostředí, tak i domácím pro kulinářskou přípravu pokrmů a dezertů. 3D tisk jako aditivní výrobní proces, který využívá nanášení materiálu vrstvu po vrstvě s předem stanovenými parametry k vytvoření 3D struktur. 3D tisk využívá technologii 3D modelování, která pomáhá digitálnímu zařízení vytvářet 3D objekty z různých materiálů [1, 2]. Aplikace 3D tisku umožňuje několik výhod při zpracování potravin. Například kreativita při výrobě nových typů produktů, změnu nutričního složení vyráběných potravin

a snižování odpadu. Nevýhodou je např. delší doba tisku, složitější softwarová práce a manuální sanitace zařízení pro 3D tisk. Pro výrobu potravinářského produktu 3D tiskem je však nutné posoudit reologické vlastnosti tištěného materiálu vhodným senzorickým a nutričním profilem a dále nastavit parametry 3D tiskárny [1, 2].

Na základě tisknutelnosti můžeme potraviny rozdělit do tří kategorií. Nativní potravinářské materiály se vyznačují dostatečnou průtokovým objemem (sýry, čokoláda, cukrovinky, těsto). Dále potravinářské výrobky, které jsou viskóznější formy a vyžadují řádně řízenou rychlost průtoku tohoto materiálu (masné a veganské výrobky). Poslední kategorií jsou alternativní ingredience, do kterých bychom mohli obecně zařadit funkční potraviny, a to jsou především bílkoviny, polysacharidy (vláknina) získávanéz řas, hub, bakterií, případně hmyzu [3, 4]

Podle mechanismu extruze lze extrudery rozdělit na vytlačování pomocí pístu (na bázi injekční stříkačky), vytlačování pomocí Archimédova šroubu nebo vytlačování pomocí stlačeného vzduchu. U extruderu na bázi injekční stříkačky je píst poháněn naprogramovaným krokovým motorem, který zajišťuje lineární pohyb a vytlačuje potravinářskou hmotu z trysky. Rychlost vytlačování lze snadno upravit změnou rychlosti motoru. Když je viskozita potravinářských inkoustů příliš vysoká, motor vyžaduje větší výkon, aby byl schopen hmotu vytlačit tryskou. 3D tiskárna založená na injekční stříkačce byla široce používána v procesech tisku potravin a byla popsána v mnoha předchozích studiích jako velmi efektivní, avšak pouze pro potravinářské hmoty s nižší viskozitou. Toto tvrzení bylo také potvrzeno pomocí simulace rychlostního profilu a smykové rychlosti, kde byla zaznamenána vysoká smyková rychlost a nízký tlak okolo výstupní trysky [3].

Hlavní součást extruderu, která ovlivňuje výsledný model je tryska, konkrétně její průměr. Aby bylo dosaženo vyšší přesnosti je vhodné vybrat trysku s menším průměrem, avšak do takové míry, aby mohl tištěný materiál hladce vytékat, bez nárůstu tlaku v zásobníku. Dalším pozitivem využití menšího průměru trysky je zvýšení kompaktnosti tištěného objektu, jelikož je třeba více vrstev k dosažení výsledku. Dále se také v důsledku zvýšení počtu vrstev došlo ke snížení vrstevnatosti, takže povrch vytištěného objektu je celistvější a hladší. Extrémní snížení průměru trysky však způsobuje velmi časté ucpání extrudéru, protože tištěný materiál není 100% homogenní a může obsahovat hrudky, nedokonale namleté šlachy či koření [5].

Pro kontinuální provoz 3D tiskárny je nejvhodnější mechanismus extruze na bázi Archimédova šroubu, který byl úspěšně aplikován v procesech tisku potravin, jako je biomasa [6], produktů z bramborové kaše [7], surimi [4] a tisk produktů z těsta [8]. V extruzní trubici je šroub poháněn naprogramovaným krokovým motorem a do extrudéru je nepřetržitě přiváděna potravinářská hmota směrem dolů ze zásobníku, která dále prochází užší trubicovou tryskou. Avšak, bylo zjištěno, že během extruze dochází k podtékání tištěného materiálu mezi závity Archimédova šroubu, což mělo za následek pokles tlaku v oblasti tiskové trysky. Autor však, dochází i k závěru, že využití Archimédova šroubu je vhodné pro vícesložkové hmoty, kdy při extruzi dochází k jejich rovnoměrné homogenizaci [9].

Nastavení tiskových parametrů během procesu slicingu STL modelu je klíčové pro dosažení optimálních výsledků při tisku potravin. Správné nastavení těchto parametrů zahrnuje volbu vrstev, rychlost tisku, teplotu tiskového materiálu a další faktory, které mají zásadní vliv na konečnou kvalitu vytisknutého produktu. Přesné nastavení parametrů umožňuje dosažení požadované úrovně detailu, hladkosti povrchu a celkové pevnosti tisknutého objektu. Správné

nastavení těchto parametrů také minimalizuje riziko problémů během tisku, jako jsou vrstvení, odtrhávání nebo deformace potravinářských výrobků. Vedle toho může správné nastavení parametrů přispět k efektivnějšímu využívání tiskového materiálu a snížení odpadu. Je proto nezbytné věnovat pozornost a pečlivě konfigurovat tiskové parametry pro každý konkrétní potravinářský výrobek, aby bylo dosaženo optimálních výsledků a zajistila se bezpečnost a kvalita potravin [4, 8].

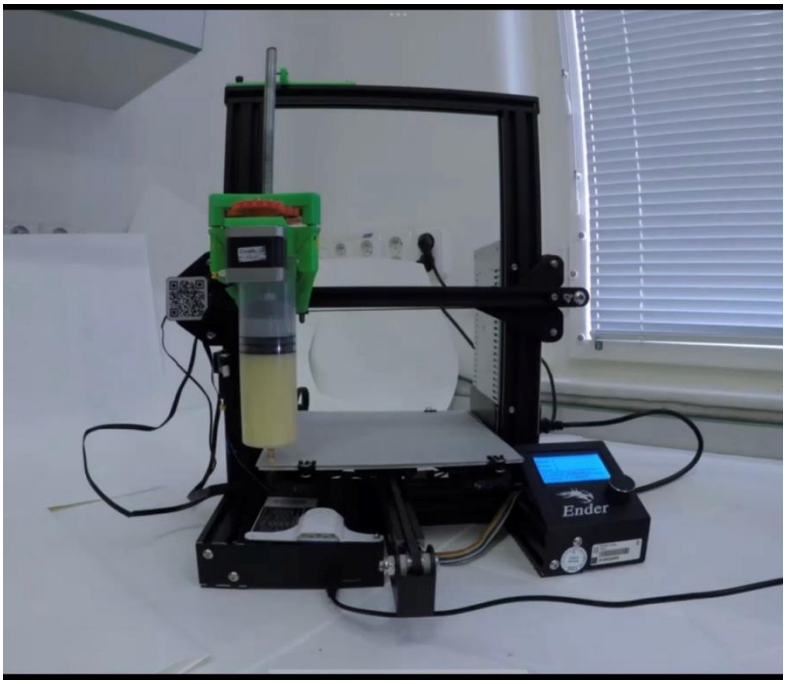
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Příprava vzorku

V rámci toho experimentu byl připraven jeden vzorový potravinářský matriál. Bylo zvolena odpalované těsto, které svými fyzikálními vlastnostmi nejlépe odpovídá potřebám pro extruzi pomocí pístového extrudéru, který je součástí 3D tiskárny. Těsto se skládá z: 250 ml vody, 100 g másla, 200 g hladké mouky, 5 ks vajec. Voda a máslo byly přivedeny k varu a následně se do nich vmíchala hladká mouka. Hmota byla míchána, dokud nebyla zcela homogenní a nelepila se na vařečku. Po vychladnutí se do hmoty pomalu vmíchali vejce. Po důkladné homogenizaci se těsto plnilo do extrudéru.

Konstrukce tiskárny

V tomto experimentu jsme provedli transformaci standardní 3D tiskárny, konkrétně modelu Ender 3, s cílem umožnit tisk potravinářských materiálů prostřednictvím této konkrétní tiskárny (Obrázek 1). Celý proces zahrnoval důkladné úpravy jak v hardwaru, tak ve firmware tiskárny. Prvním krokem bylo odstranění původních komponent extrudéru pro plastické hmoty, přičemž byla zachována pouze hliníkový nosič na ose X.

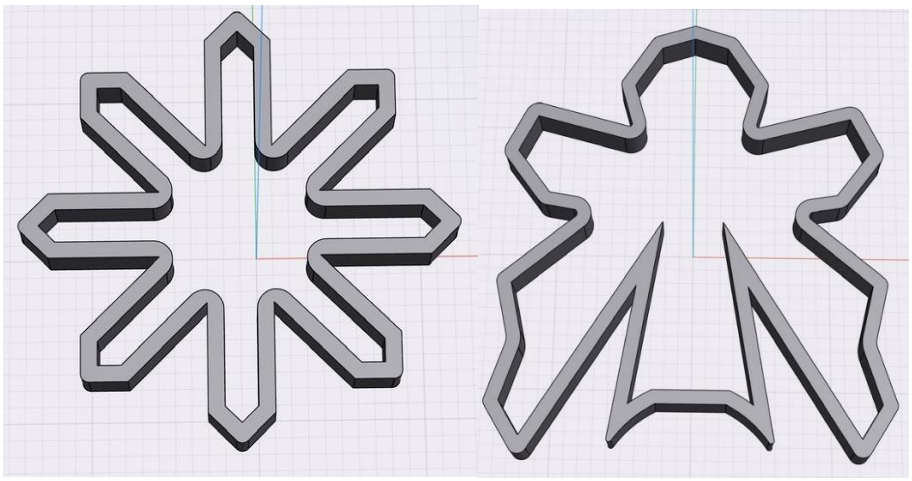


Obrázek 1: konstrukce 3D tiskárny s upraveným extruderem

Tato fáze byla následována modifikací zdrojového kódu původní tiskárny tak, aby nedocházelo k ohřevu extrudéru, který již nebyl fyzicky připojen. Dále byly provedeny úpravy firmwaru pro změnu směru otáčení krokového motoru extrudéru a odstranění tepelné ochrany, bránící otáčení motoru při teplotách nižších než 170 °C. V návaznosti na modifikace byl navržen a sestrojen pastový extruder. Proces vývoje zahrnoval využití grafického softwaru Sharp3D a iterativní prototypování, což nakonec vedlo k vytvoření finálního modelu obsahujícího původní krokový motor, převody, pouzdro, píst a válcovou nádobu z 200 ml stříkačky. Všechny komponenty modelu byly vytištěny pomocí PLA (polymer kyseliny mléčné) na 3D tiskárně Ender 3 a následně sestaveny pomocí standardních spojovacích prvků, včetně šroubů, závitového tyče a matic. Dalším důležitým krokem bylo upravení pozice osy Z, aby se předešlo kolizím mezi pastovým extruderem a vyhřívanou podložkou. Nakonec byl pastový extruder připevněn k původní hliníkové nosné liště na ose X a bylo provedeno propojení všech nezbytných kabelů.

3D modely

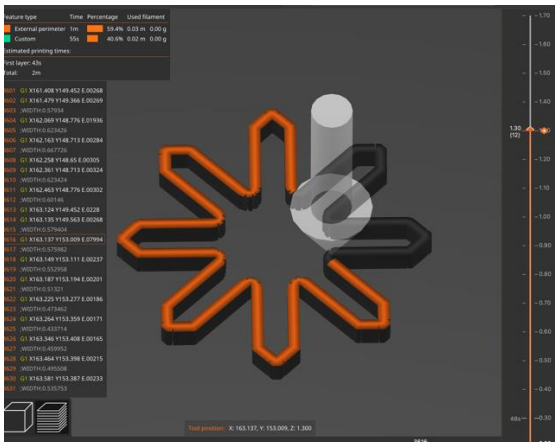
Pro tento experiment byly navrženy dva specifické modely (Model A, Model B), které byly použity jako předloha pro tisk. Modely nemají výplně, ale pouze obvodové části, aby byla zřetelná přesnost tisku, a aby tisk nebyl ovlivněn tiknutím výplně, která není tak přesná. Oba modely byly navrženy pomocí grafického softwaru Sharp3D.



Obrázek 2: Model A (Sharp3D) Obrázek 3: Model B (Sharp3D)

VÝSLEDKY A DISKUSE

Cílem toho experimentu bylo ověřit možnost precizního tisku obvodových stěn modelů a optimalizace nastavení tisku pro dosažení co možná nejlepšího výsledku. Nejprve byly modely přeneseny do slicovacího programu PrusaSlicer (Obrázek 4 a Obrázek 5) a přetransformovány do G-code, což je kód, který jsou schopny 3D tiskárny rozpoznat.



Obrázek 4: Model A (PrusaSlicer)



Obrázek 5: Model B (PrusaSlicer)

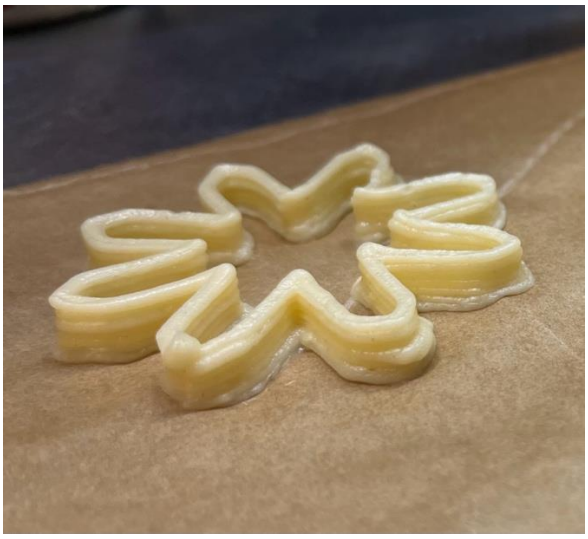
Při prvním tisku byly použity defaultní parametry PrusaSliceru, pouze se změnou průměru trysky, který činí 2 mm. Při tomto tisku však došlo pouze k odkapávání materiálu v malém množství na vyhřívanou podložku. Dále byly postupně upravovány důležité parametry tisku, dokud nebyl tisk optimální. Důležitým parametrem je výška první vrstvy a výška následujících vrstev. Po mnoha iteracích byla stanovena optimální hodnota pro první vrstvu 0,4 mm a 1 mm pro následující vrstvy.





Obrázek 6: Model A (Vytištěný) Obrázek 7: Model B (Vytištěný)

Dále byl změněn násobič extruze na hodnotu 2,3, což zajistilo dostatečné dávkování tištěného materiálu. V neposlední řadě byly sníženy rychlosti posunu extruderu, aby bylo docíleno co nejpřesnějšího tisku. S těmito parametry bylo možné vytisknout velice přesné 3D objekty, které odpovídají předloze (Obrázek 6, Obrázek 7, Obrázek 8 a Obrázek 9). Všechny použité parametry jsou uvedeny v Tabulce 1.



Obrázek 8: Model A (Zboku)



Obrázek 9: Model B (Zboku)

Tabulka 1: Tiskové parametry

Nastavení	Hodnota	Nastavení	Hodnota
Výška vrstvy	1.0 mm	Automatické chlazení	Zapnuto
Výška první vrstvy	0.4 mm	Teplota lože	110 °C
Vrchní pevné vrstvy	4	Násobič extruze	2,3
Perimetry	42 mm/s	Rychlost detrakce	48 mm/s
Malé perimetry	5 mm/s	Zdvih Z	1,2 mm
Vnější perimetry	38 mm/s	Pohyb	136 mm/s
Výplň	10 mm/s	První vrstva	38 mm/s
Vrchní pevná výplň	5 mm/s	Perimetry	1

ZÁVĚR

V závěru tohoto experimentu lze konstatovat, že úspěšně provedené modifikace 3D tiskárny a pečlivá příprava potravinářského materiálu vedly k dosažení vynikajících výsledků při tisku potravinářských modelů. Všechny součástky byly vytištěny na 3D tiskárně Ender 3 vyrobené z materiálu PLA (polymer kyseliny mléčné) a následně zkonstruovány za použití standardních spojovacích materiálů. Příprava vzorku, specifické receptury odpalovaného těsta, byla provedena s precizností a vzorek odpovídal specifikaci upraveného extruderu tiskárny. Použití pístového extruderu a pečlivá kalibrace parametrů tisku, včetně výšky první vrstvy, násobiče extruze a rychlosti posunu extruderu, přinesly optimální výsledky a umožnily precizní tisk obvodových stěn modelů. Experiment ukázal, že s adekvátními úpravami a pečlivým nastavením tisku je možné dosáhnout vysoké přesnosti tisku potravinářských materiálů. Tyto výsledky otevírají cestu k dalším výzkumům v oblasti potravinářského 3D tisku a poskytují základ pro budoucí inovace v této oblasti.

PODĚKOVÁNÍ

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A1_FPBT_2023_004.

LITERATURA

1. Dick, A., Bhandari, B. and Prakash, S. (2019). 3D printing of meat. Meat Science, 153, 35–44.
2. Gross, B. C., Erkal, J. L., Lockwood, S. Y., Chen, C. and Spence, D. M. (2014). Evaluation of 3D printing and its potential impact on biotechnology and the chemical sciences, Analytical Chemistry, 86(7), 3240–3253.
3. Sun, J., Zhou, W., Yan, L., Huang, D., Lin, L. (2018). Extrusion-based food printing for digitalized food design and nutrition control. Journal of Food Engineering, 220, 1–11.
4. Wang, L., Zhang, M., Bhandari, B., Yang, C. (2018). Investigation on fish surimi gel as promising food material for 3D printing. Journal of Food Engineering, 220, 101–108.
5. Genghan, Y., Yang, T., Peng, W., Xinglian, X., Xiaoyu, Z. (2022). Optimizing 3D printing of chicken meat by response surface methodology and genetic algorithm, Feasibility study of 3D printed chicken product, LWT, 154.
6. An, Y., Guo, C., Zhang, M., Zhong, Z. (2019). Investigation on characteristics of 3D printing using Nostoc sphaeroides biomass, Journal of the Science of Food and Agriculture, 99, 639 – 646.
7. Liu, Z., Zhang, M., Bhadari, B., Yang, C. (2018). Impact of Rheological Proper- ties of MashPotatos on 3D Printing, Journal of Food Engineering, 220, 1– 7.
8. Yang, F., Zhang, M., Prakash, S., Liu, Y. (2018). Physical properties of 3D printed baking dough as affected by different compositions, Innovative Food Science & Emerging Technologies, 49, 202 – 210.
9. Guo, C., Zhang, M., Bhandari, B. (2019). A comparative study between syringe-based and screw-based 3D food printers by computational simulation, Computers and Electronics in Agriculture, 162, 397–404.

P9

Optimalizace fermentačního procesu pří výrobě kombuchy

Optimalization of the fermentation process during production of kombucha

Gabriela Krátká, Natálie Alferyová, Iveta Horsáková

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Cílem této práce bylo definovat podmínky výroby fermentovaného nápoje kombuchy a standardizovat tak její produkci. Primárním testovaným faktorem byla teplota fermentace (20, 25 a 30 °C). V průběhu fermentace byl sledován průběh změny pH a koncentrace mikroorganismů. V rámci mikrobiologického rozboru byly stanovovány bakterie mléčného kvašení (MRS agar), bakterie octového kvašení (GYC agar), kvasinky (DRBC agar) za účelem zhodnocení vývoje mikroflóry a její metabolické aktivity v kombuche. Po ukončení fermentačního procesu byla provedena senzorická analýza a izotachoforeticky stanovena koncentrace kyseliny mléčné a octové. Rychlejší stabilizace hodnoty pH byla pozorována při 25 a 30 °C (96 hodin). Senzoricky ale byl nejlépe hodnocen vzorek fermentovaný při 20 °C a konečné pH vzorku bylo nejnižší. Proto byla teplota 20 °C zvolena pro navazující fázi experimentu. Následně byla testována různá počáteční koncentrace cukru, a to 60, 75 a 90 g/l, plus varianta 75 g/l cukru s přídavkem bakterie *Lactiplantibacillus plantarum*. Nejlepších organoleptických vlastností bylo dosaženo u vzorků s přídavkem cukru 75 g/l, tento vzorek obsahoval i nejvyšší koncentraci kyseliny octové (3,1±0,3 g/l).

Klíčová slova: *fermentace, kombucha, mléčné kvašení, octové kvašení*

SUMMARY

The aim of this work was to optimize the conditions for the production of the fermented beverage kombucha and to standardize its production. The primary test factor was the fermentation temperature (20, 25 and 30 °C). During fermentation, the changes of pH value and microorganism concentrations was monitored. Within the microbiological analysis, lactic acid bacteria (MRS agar), acetic acid bacteria (GYC agar) and yeasts (DRBC agar) were determined in order to evaluate the development of microflora and its metabolic activity in kombucha. After the fermentation process was completed, sensory analysis was performed, and the concentration of lactic and acetic acids was isotachophoretically determined. Faster stabilization of the pH value was achieved for the samples fermented at 25 and 30 °C (96 hours). In terms of organoleptic properties, however, the sample fermented at 20 °C was the best and the final pH of the sample was the lowest. Therefore, a temperature of 20 °C was chosen for the follow-up phase of the experiment. Subsequently, different initial sugar concentrations of 60, 75 and 90 g/L were tested, plus a variant of 75 g/L of sugar with the addition of the bacteria

Lactiplantibacillus plantarum. The best organoleptic properties were achieved in samples with sugar concentration of 75 g/L, this sample also contained the highest concentration of acetic acid (3.1±0.3 g/L).

Keywords: *fermentation, kombucha, lactic acid fermentation, acetic acid fermentation*

ÚVOD

Kombucha je fermentovaný nápoj původem z Asie. V současné době, ale popularita kombuchy roste zejména v zemích západní Evropy a USA díky jejím zdraví prospěšným účinkům, jako je antimikrobiální, antioxidační, antikarcinogenní, antidiabetický. Rovněž pomáhá při snižování cholesterolu a má imunomodulační vliv a detoxikuje játra [1, 2].

Tradičně se tento nápoj vyrábí fermentací slazeného černého čaje, ale při jeho přípravě lze použít i jiné druhy čaje či jejich směsi [1]. Do čajového nálevu je přidána fermentační násada, která se skládá ze široké škály rozmanitých mikroorganismů a je označována jako SCOBY (Symbiotic Colony of Bacteria and Yeasts), čajová houba apod. [1, 2, 3]. Tato symbiotická kultura zahrnuje bakterie octového kvašení (AAB, zejména rody *Gluconobacter* a *Acetobacter*), bakterie mléčného kvašení (LAB, rody *Lactobacillus, Lactococcus*) a kvasinky (*Schizosaccharomyces pombe, Saccharomycodes ludwigii, Kloeckera apiculata, Saccharomyces cerevisiae, Zygosaccharomyces bailii, Torulaspora delbrueckii, Brettanomyces bruxellensis*) [4, 5, 6, 7].

Během fermentace osmofilní kvasinky fermentují cukr za produkce ethanolu a přítomné bakterie oxidují alkohol a vytvářejí kyselinu octovou [1, 8]. Kromě kyseliny octové se tvoří další organické kyseliny, jako je mléčná, glukonová, jablečná, vinná a v menší míře i kyseliny citronová, které jsou produkovány zejména bakteriemi mléčného kvašení a díky svému antibakteriálnímu účinku zabraňují kontaminaci kombuchy patogenními bakteriemi a vytvářejí charakteristickou kyselou chuť [9, 10, 11].

Příznivé účinky kombuchy na lidské zdraví jsou připisovány hned několika faktorům. Klíčovou roli hrají probiotické mikroorganismy (octové a mléčné bakterie) a jejich metabolické produkty jako jsou například jednoduché organické kyseliny nebo vitaminy. Dále mají pozitivní účinek i polyfenoly z čaje, které působí antioxidačně [1, 12, 13].

Z hlediska organoleptických vlastností, podle studie Leala a kol. z roku 2018, má být kombucha mírně kyselá a sycená oxidem uhličitým, což zvyšuje atraktivitu u spotřebitelů a v současné době je propagována i jako náhražka šumivých vín a představuje zdravější alternativu klasických sycených nealkoholických limonád [10]. V současné době se na trhu můžeme setkat se třemi typy kombuchy - nealkoholickou a nízkoalkoholickou verzi (<0,5 obj.% alkoholu), nebo dokonce i verzi s vyšším obsahem alkoholu [1, 14].

Důležitými faktory, které ovlivňují finální vlastnosti kombuchy, jsou technologie výroby, složení mikroorganismů v matečné kultuře, a fyzikálně-chemické vlivy (teplota během fermentace, přístup kyslíky, aj.). Během výroby kombuchy se uplatňují hned tři druhy kvašení – octové, mléčné a alkoholové, a i proto je velmi obtížné proces výroby v průmyslovém měřítku standardizovat [4].

Tato práce si klade za cíl optimalizovat podmínky vedení procesu fermentace (teplota, obsah cukru v nálevu, přídavek bakterií mléčného kvašení) při výrobě kombuchy tak, aby bylo dosaženo produktu se standardními vlastnostmi a s odpovídající organoleptickou jakostí.

METODIKA

Příprava vzorků

Vzorky byly standardně připraveny podle receptury nápoje kombuchy. Na čajový nálev bylo použito 8 g/l sypaného čaje. Po zalití vroucí vodou byl louhován po dobu 12 minut. Do scezeného čaje bylo rozpuštěno příslušené množství cukru (1. experiment 75 g/l a 2. experiment 60, 75 a 90 g/l). Čajový nálev byl zchlazen na teplotu nižší než 40 °C a následně byla přidána násada (matečná kultura kombuchy) v množství 10 obj.% nálevu. Zaočkovaný nálev byl rozdělen do příslušných zásobních lahví (250 ml) a přemístěn do termostatů. V případě prvního experimentu byly vzorky vloženy do termostatů o teplotách 20, 25 a 30°C. Při druhém experimentu byly uloženy pouze v termostatu 20°C.

Měření pH

V průběhu experimentu byl monitorován vývoj hodnoty pH u všech vzorků pomocí pH-metru (Inolab, Německo).

Stanovení koncentrace mikroorganismů

Koncentrace mikroorganismů byla stanovována pomocí plotnové metody každých 24 hodin. Při 1. experimentu byly použity následující agary: PCA (celkové počty mikroorganismů), MRS (bakterie mléčného kvašení), M17 (mléčné koky), GYC (bakterie octového kvašení), DRBC (plísně a kvasinky) a TBX (Escherichia coli). V rámci 2. experimentu byly použity tyto agary: MRS, GYC a DRBC. Počty mikroorganismů byly vyjádřeny jako KTJ/ml.

Měření koncentrace organických kyselin

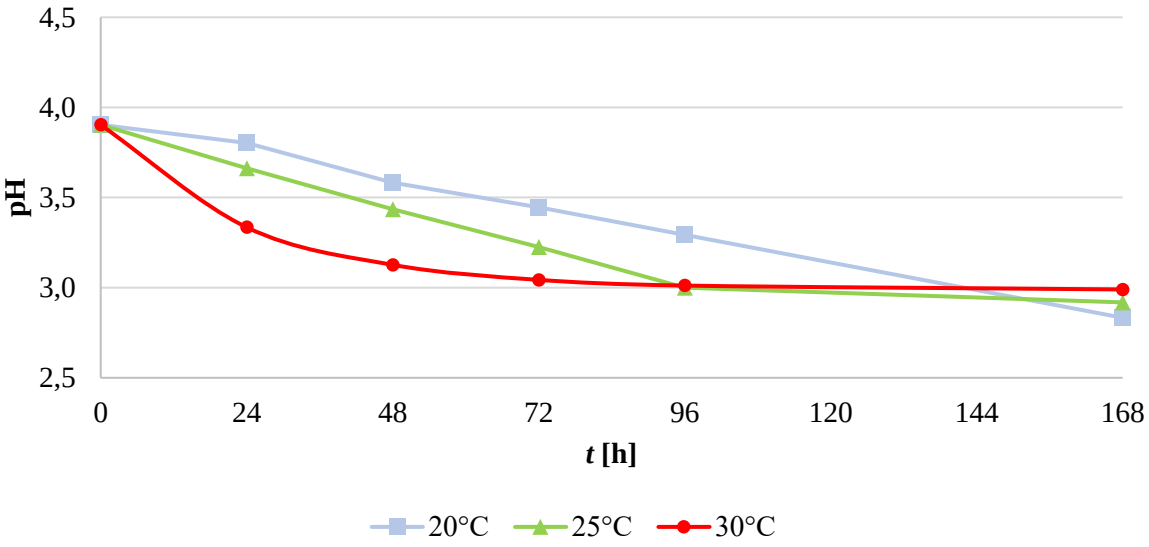
Složení organických kyselin bylo stanoveno pomocí izotachoforézy (vedoucí elektrolyt: směs 10mmol HCl, 22mmol EACA a 0,05 % hydroxycelulosa; koncový elektrolyt: 10mmol kyselina kapronová). Pro měření byla provedena kalibrační řada za použití kyseliny mléčné a octové o koncentracích 5, 10, 20, 30 a 50 mg/l. Vzorky pro měření byly 100krát zředěny.

Senzorické hodnocení

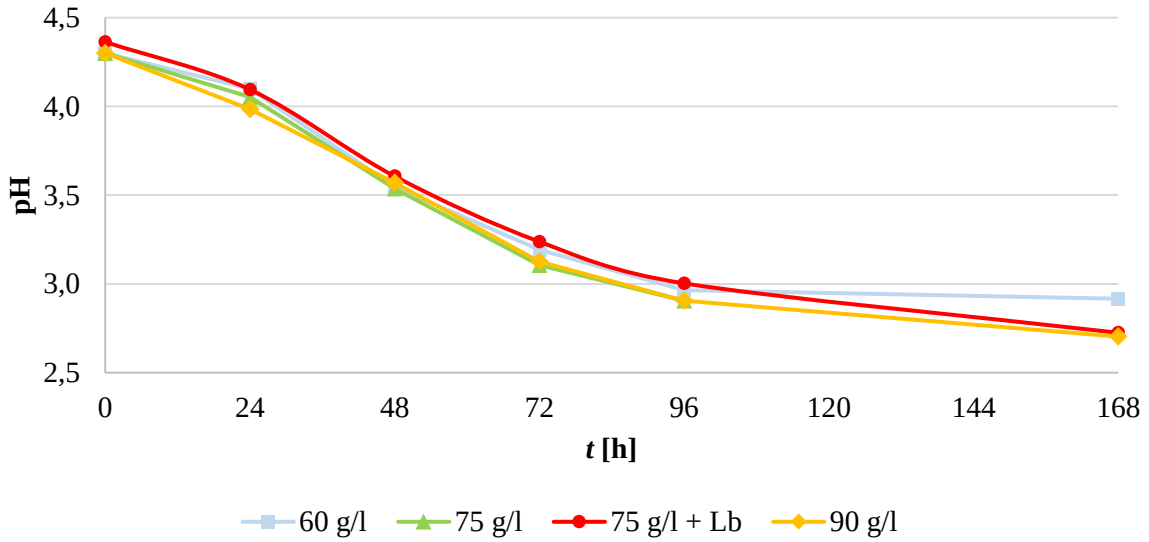
Po ukončení experimentu byly vzorky předloženy panelu hodnotitelů. Deskriptory pro hodnocení kombuchy byly následovné: příjemnost a intenzita sladkosti, příjemnost a intenzita kyselosti, intenzita hořkosti, přítomnost nežádoucích pachutí, ovocná chuť, perlivost a celkový dojem. Výsledky senzorické analýzy byly zpracované do pavučinového grafu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Průběh pH během fermentace



Obrázek 3: Gaf vývoje hodnoty pH v průběhu fermentace vzorků kombuchy při různých teplotách



Obrázek 4: Graf vývoje hodnoty pH v průběhu fermentace vzorků kombuchy s různým přídavkem cukru

Parametr pH může sloužit jako orientační indikátor metabolické aktivity mikroorganismů. Během fermentace dochází k přeměně sacharidů na různé produkty, jako je především kyselina octová a mléčná. Z grafu (viz **Obrázek 1**) lze pozorovat, že čím vyšší je teplota kultivace, tím rychleji dochází k poklesu pH. U vzorků při 25 °C a 30 °C se pH stabilizuje již po 96 hodinách. Avšak na základě senzorického hodnocení a z ekonomického hlediska byla pro pokračování experimentu zvolena teplota 20 °C, při které byl následně testován vliv přídavku cukru. Z grafu znázorněném na **obrázku 2** je patrné, že zvolené koncentrace cukru nemají výrazný vliv na vývoj pH u sledovaných vzorků, pokud jsou fermentovány při stejné teplotě (20 °C). Vlivem teploty na produkci kombuchy se v roce 2017

zabývali i Neffe-Skocińska a kol. V rámci své práce došli k závěru, že optimální teplota produkce je 25 °C, protože se jedná o optimum růstu kvasinek, jejichž metabolity (monosacharidy a ethanol) jsou jedinými dostupnými substráty pro bakterie octového kvašení. Růst a metabolická aktivita kvasinek v kombuche je tedy klíčovým bodem procesu. Výsledkem senzorické analýzy v rámci této studie bylo, že není možné určit žádný významný rozdíl v senzorickém profilu mezi kombuchou vyrobenou při 20, 25 a 30 °C [9].

Tabulka 2: Počet přítomných mikroorganismů ve vzorcích kombuchy fermentovaných při různých teplotách a s různým přídavkem cukru

	Počet mikroorganismů [KTJ/ml]		
	Bakterie mléčného kvašení	Bakterie octového kvašení	Kvasinky
20 °C	$7{,}2.10^7$	$1{,}5.10^6$	$1{,}8.10^7$
25 °C	$5{,}1.10^7$	$2{,}3.10^5$	$7{,}0.10^7$
30 °C	$6{,}6.10^7$	$7{,}5.10^4$	$1{,}0.10^7$
60 g/l (20 °C)	$2{,}0.10^7$	$2{,}0.10^7$	$2{,}5.10^7$
75 g/l (20 °C)	$4{,}7.10^7$	$2{,}5.10^6$	$2{,}8.10^7$
75 g/l (20 °C) + *Lpb. plantarum*	$2{,}0.10^7$	$2{,}5.10^6$	$2{,}8.10^7$
90 g/l (20 °C)	$2{,}3.10^7$	$2{,}3.10^7$	$5{,}0.10^6$

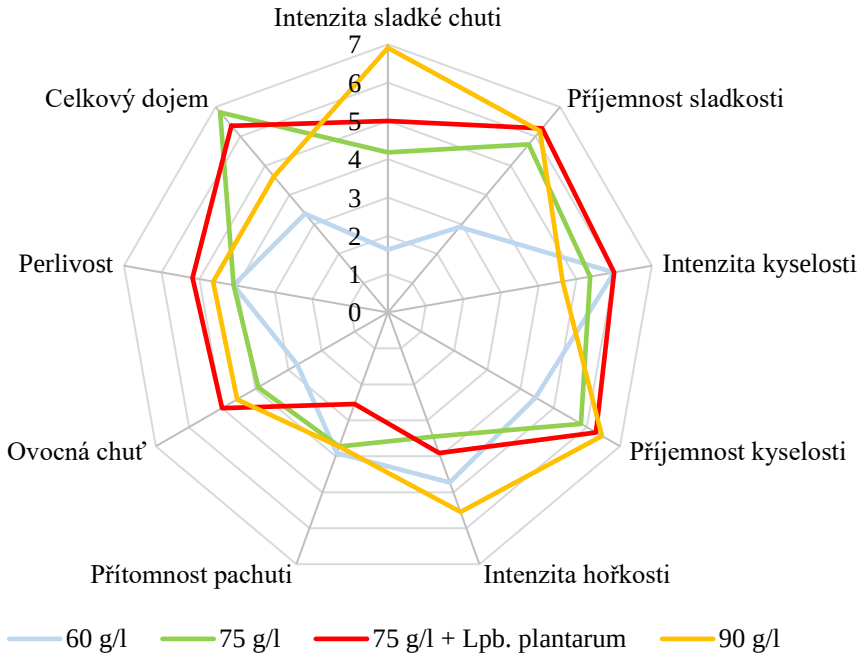
Z tabulky (viz **Tabulka 1**) je patrné, že počet bakterií mléčného kvašení se na konci fermentace u všech vzorků řádově nelišil. Větší variabilita byla pozorována u bakterií octového kvašení, kdy s vyšší kultivační teplotou došlo ke snížení počtu mikroorganismů o 1 řád. Počty kvasinek ovlivnil pouze vyšší přídavek cukru (90 g/l).

Tabulka 3: Obsah kyseliny mléčné a octové ve vzorcích kombuchy fermentovaných při různých teplotách a s různým přídavkem cukru

	Kyselina mléčná	**Kyselina octová**
	Průměrný obsah [mg/l]	Průměrný obsah [g/l]
20 °C	65,5 ± 7,7	3,9 ± 0,1
25 °C	72,3 ± 9,6	4,6 ± 0,1
30 °C	75,0 ± 5,8	4,1 ± 0,0
60 g/l (20 °C)	231,9 ± 67,3	2,4 ± 0,4
75 g/l (20 °C)	168,9 ± 56,4	3,1 ± 0,3
75 g/l (20 °C) + *Lpb. plantarum*	147,4 ± 0,3	1,6 ± 0,0
90 g/l (20 °C)	223,3 ± 14,1	2,1 ± 0,0

U vzorků fermentovaných při různých teplotách se výrazně lišily vzorky udržované v teplotě 25 °C, u kterých byla vyšší koncentrace kyseliny octové (viz Tabulka 2). To se projevilo i při senzorickém hodnocení, kdy většina tazatelů tento vzorek nepreferovala. Vyšší obsah kyseliny octové může působit ve směsi jako hořká pachuť. U vzorků s přídavkem cukru 60 g/l a 90 g/l byl naměřen vyšší obsah kyseliny mléčné, a naopak nižší obsah kyseliny octové, což bylo pravděpodobně způsobeno rozvojem divokých kvasinek, které dokážou kyselinu octovou dále metabolizovat. Goh a kol. ve své studii v roce 2012 uvedli, že se zvyšujícím se obsahem cukru se zvyšuje i produkce celulózy a zvyšuje rychlost poklesu pH

v nápoji typu kombucha až do limitní koncentrace 90 g/l, kdy dochází naopak k opačnému jevu [15].



Obrázek 5: Pavučinový graf senzorického profilu vzorků kombuchy s různým počátečním přídavkem cukru

Vzorky s různým přídavkem cukru byly po ukončení fermentace hodnoceny i z organoleptického hlediska. Hodnocené deskriptory byly příjemnost a intenzita sladkosti, příjemnost a intenzita kyselosti, intenzita hořkosti, přítomnost nežádoucích pachutí, ovocná chuť, perlivost a celkový dojem. Ze senzorického hlediska je nejpodstatnější vyváženost mezi sladkou a kyselou chutí, což právě u vzorků s počáteční koncentrací cukru 60 a 90 g/l nebylo vyhovující. Vzorek s počáteční koncentrací cukru 60 g/l byl příliš kyselý. Nejlépe hodnoceny byly vzorky s počáteční koncentrací cukru 75 g/l. Mezi vzorky bez přídavku a s přídavkem bakterie Lpb. plantarum nebyly v rámci organoleptických vlastností významné rozdíly.

ZÁVĚR

Mezi vzorky fermentovanými při různých teplotách nebyly výrazné rozdíly. Zároveň nejlépe hodnocený vzorek byl fermentovaný při teplotě 20 °C. Nejen proto, ale hlavně z ekonomického hlediska (udržování teploty 30 °C vs 20 °C) byla jako ideální teplota pro fermentaci kombuchy zvolena 20 °C. S ohledem na počáteční koncentraci cukru v nálevu kombuchy před fermentací byla jako ideální hodnota zvolena hodnota 75 g/l. Podpoření matečné násady přídavkem bakterie *Lactiplantibacillus plantarum*, izolovaného z fermentovaného zelí, nevedlo k významným odchylkám ve sledovaných parametrech.

Tento experiment by tak mohl vést k následné studii zaměřené na izolaci bakterií mléčného a octového kvašení přímo z používané násady a uměle vytvořit násadu s požadovaným poměrem těchto bakterií tak aby došlo k zefektivnění procesu fermentace a zároveň k produktu s ideálními a standardizovanými organoleptickými vlastnostmi.

PODĚKOVÁNÍ

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A1_FPBT_2023_004.

LITERATURA:

1. Coelho R.M.D., de Almeida A.L., do Amaral R.Q.G., da Mota R.N., de Sousa P.H.M. 2020. Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22,100272.
2. Chakravorty S., Bhattacharya S., Chatzinotas A., Chakraborty W., Bhattacharya D., Gachhui R. 2016. Kombucha tea fermentation: microbial and biochemical dynamics. *Int. J. Food Microbiol*., 220, 63–72.
3. De Filippis F., Troise A.D., Vitaglione P., Ercolini D. 2018. Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation. *Food Microbiol*., 17, 11–16.
4. Villarreal-Soto S.A., Beaufort S., Bouajila J., Souchard J.-P., Taillandier P. 2018. Understanding kombucha tea fermentation: a review. *J. Food Sci*., 83 (3), 580–588.
5. Roos J. D., Vuyst L. D. 2018. Acetic acid bacteria in fermented foods and beverages. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 115–119.
6. Marsh A. J., O'Sullivan O., Hill C., Ross R. P., Cotter, P. D. 2014. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple Kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiology*, 38, 171–178.
7. Coton M., Pawtowski A., Taminiau B., Burgaud G., Deniel, F., Coulloumme-Labarthe, L., & Coton, E. (2017). Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. *Fems Microbiology Ecology*, 93(5), 1–16.
8. Teoh A.L., Heard G., Cox J. 2004. Yeast ecology of Kombucha fermentation. *Int. J. Food Microbiol*., 95 (2), 119–126.
9. Neffe-Skocinska K., Sionek B., Scibisz I., Kolozyn-krajewska D. 2017. Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. *CyTA - J. Food*, 15 (4), 601–607.
10. Leal M., Suarez V., Jayabalan R., Oros H., Escarlante-aburto A. 2018. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - J. Food*, 16 (1), 390–399.
11. Jayabalan R., Malbasa R., Loncar E., Vitas J., Sathishkumar M. 2014. Review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf*., 13 (4), 538–550.
12. Jayabalan R., Subathradevi P., Marimuthu S., Sathishkumar M., Swaminathan K. 2008. Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chem*., 109 (1), 227–234.
13. Fu C., Yan F., Cao Z., Xie F., Lin J. 2014. Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. *Food Sci. Technol*. (Zur.) 34 (1), 123–126.
14. Nummer B., 2013. Kombucha brewing under the food and drug administration model food code: risk analysis and processing guidance. *J. Environ. Health*, 76 (4), 8–11.
15. Goh W. N., Rosma A., Kaur B., Fazilah A., Karim A. A., Bhat R. 2012. Microstructure and physical properties of microbial cellulose produced during fermentation of black tea broth (Kombucha). II., *International Food Research*, 19(1), 153–158.

P10

Analýza těkavých látek u reformulovaných sýrů s plísní v těstě

Analysis of volatile compounds in reformulated cheeses with mold inside the dough

Vojtěch Kružík[1], Iveta Šístková[1], Irena Němečková[2], Helena Čížková[1]

[1)] Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice
[2)] Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., MILCOM a.s., Ke Dvoru 12a, 160 00 – Praha 6

SOUHRN

Reformulace sýrů je v současné době velmi aktuální téma, neboť se jedná o výrobky s poměrně vysokým obsahem soli. Nadměrný příjem chloridu sodného se považuje za významné zdravotní riziko, proto se výrobci snaží jeho obsah snížit, ale současně neovlivnit senzorické vlastnosti výrobku a technologické podmínky výroby. Cílem této studie je zhodnotit vliv obsahu soli na profil těkavých a senzoricky aktivních látek modelových vzorků sýrů s plísní v těstě. Pro analýzu těchto sloučenin byla využita metoda plynové chromatografie s hmotnostním a olfaktometrickým detektorem (SPME-GC-O-MS). Pro ověření obsahu minerálních látek (sodík, draslík) byla provedena analýza pomocí metody atomové absorpční spektrometrie (AAS). Vzorky reformulovaných sýrů typu Niva byly získány z Výzkumného ústavu mlékárenského s.r.o.

Klíčová slova: *těkavé sloučeniny, sýr, olfaktometrie, reformulace*

SUMMARY

The reformulation of cheeses is currently a topical issue, as these are products with a relatively high salt content. Excessive intake of sodium chloride is considered a significant health risk, therefore manufacturers try to reduce its content, but at the same time not to affect the sensory properties of the products and the technological conditions of production. The aim of this study is to assess the effect of salt content on the profile of volatile and sensory active compounds of model cheese samples with mold in the dough. The gas chromatography method with mass and olfactometric detector (SPME-GC-O-MS) was used for the analysis of these compounds. To verify the content of mineral substances (sodium, potassium), an analysis using atomic absorption spectrometry (AAS) was performed. Samples of reformulated cheeses of the Niva type were obtained from the Dairy Research Institute, Prague.

Keywords: *volatile compounds, cheese, olfactometry, reformulation*

ÚVOD

Reformulace mléčných výrobků je v současné době velmi aktuálním tématem. Samotná reformulace spočívá zejména v úpravě základních složek (bílkoviny, sacharidy, tuky) či ve snižování obsahu soli. V případě sýrů je snižování obsahu soli významný aspekt, neboť v ČR je její příjem značně vysoký. Na druhou stranu použití soli při výrobě sýrů je z technologického hlediska velice důležité, neboť ovlivňuje finální chuť výrobku, růst bakteriálních kultur a texturu. Obsah soli je i specifický znak pro jednotlivé druhy sýrů, např. sýry typu Niva a Roquefort mají obvyklý obsah soli okolo 3 – 4 %.

Reformulace může mít vliv na profil těkavých a senzoricky aktivních látek finálních výrobků. Pro hodnocení těkavých látek se nejčastěji využívá plynová chromatografie s hmotnostním detektorem. Tato technika může být doplněna olfaktometrickým portem, takže může být sledován specifický senzorický vjem jednotlivých separovaných sloučenin. Výsledky získané těmito metodami pak charakterizují sloučeniny podílející se na celkové vůni. Cílem této práce je využít inovovanou metodu SPME-GC-O-MS pro analýzu těkavých látek reformulovaných sýrů s plísní v těstě (typu Niva).

MATERIÁL A METODY

Celkem bylo analyzováno 30 vzorků sýrů typu Niva s plísní v těstě (Tabulka 1), které byly dodány Výzkumným ústavem mlékárenským s.r.o. Vzorky se mezi sebou lišily především obsahem soli a dobou zrání. Pro lepší orientaci jsou jednotlivé vzorky označeny dobou zrání tj. 4, 15, 30, 43 a 56 dní. Před analýzou byly vzorky uchovávány při teplotě -18 °C.

Tabulka 1: Reformulované vzorky sýrů a jejich charakterizace (obsah soli a draslíku)

Označení vzorku	Varianta	Doba zrání (dny)	Obsah soli (g/100 g)	Obsah draslíku (g/100 g)
R2/1/4	1	4	4,73	0,22
R2/1/15		15	3,59	0,16
R2/1/30		30	3,89	0,19
R2/1/43		43	3,20	0,19
R2/1/56		56	4,04	0,22
R2/2/4	2	4	3,13	0,16
R2/2/15		15	2,02	0,17
R2/2/30		30	2,74	0,18
R2/2/43		43	3,28	0,21
R2/2/56		56	3,43	0,21
R2/3/4	3	4	2,57	0,19
R2/3/15		15	2,19	0,19
R2/3/30		30	2,19	0,21
R2/3/43		43	2,52	0,18
R2/3/56		56	2,53	0,20
R2/4/4	4[a]	4	1,49	0,46
R2/4/15		15	1,82	0,50
R2/4/30		30	1,34	0,55
R2/4/43		43	1,39	0,71
R2/4/56		56	1,27	0,89

Označení vzorku	Varianta	Doba zrání (dny)	Obsah soli (g/100 g)	Obsah draslíku (g/100 g)
R2/5/4		4	3,12	0,25
R2/5/15		15	3,57	0,22
R2/5/30	5[b]	30	3,58	0,27
R2/5/43		43	4,04	0,26
R2/5/56		56	4,99	0,33
R2/6/4		4	2,64	0,80
R2/6/15		15	2,37	0,80
R2/6/30	6 [a, b]	30	2,43	0,83
R2/6/43		43	2,17	0,88
R2/6/56		56	2,10	0,84

Poznámka: a) 1/3 molární hmotnosti NaCl nahrazena KCl; b) odlišná plísňová kultura a kultura bakterií mléčného kvašení

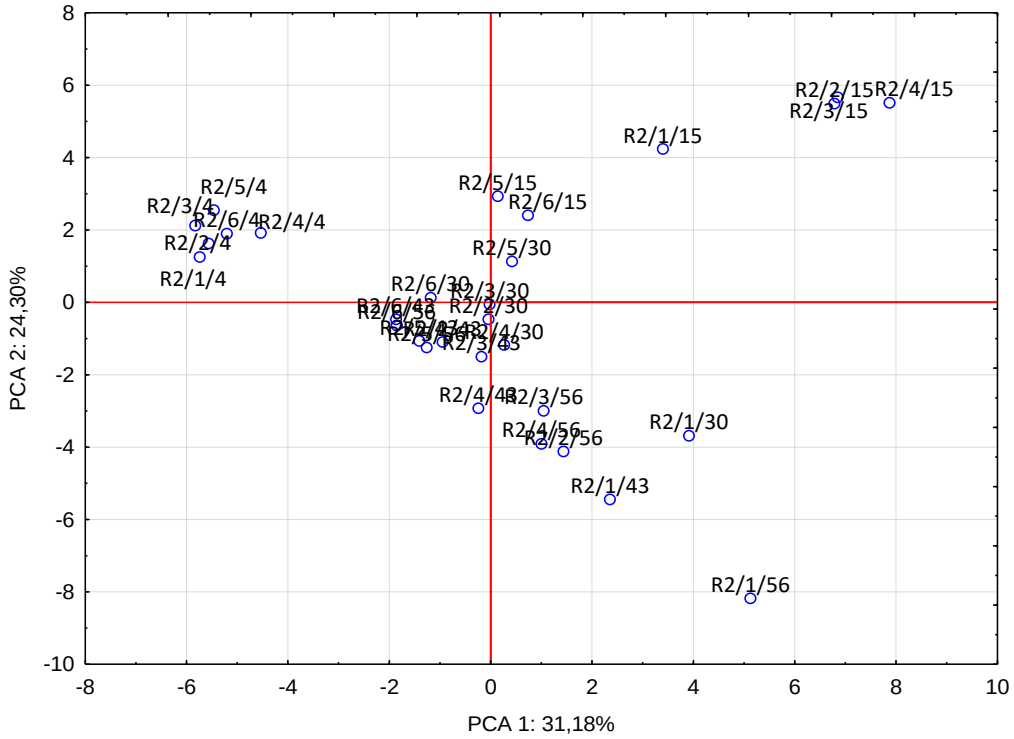
Pro analýzu těkavých a senzoricky aktivních sloučenin byla použita metoda plynové chromatografie ve spojení s hmotnostním a olfaktometrickým detektorem (SPME-GC-O-MS). Jednotlivé sloučeniny byly identifikovány na základě NIST knihovny (NIST 14) a pomocí Kovatsových retenčních indexů RI. Stanovení minerálních látek (sodík, draslík) bylo provedeno metodou atomové absorpční spektrometrie (AAS, podle ČSN EN 1134, 1996).

VÝSLEDKY

Těkavé sloučeniny určující vůni sýrů se vytvářejí primárně během jeho zrání. Vznikají převážně rozkladem laktózy, lipidů a bílkovin. Celkem bylo identifikováno 45 sloučenin, zastoupeny byly především organické kyseliny, ketony, alkoholy, estery, aldehydy a laktony. Majoritně se vyskytovaly volné nižší mastné kyseliny a jejich estery. Jednalo se hlavně o kyselinu máselnou, hexanovou a oktanovou. Typická sloučenina plísňových sýrů je kyselina hexanová, která vzniká vlivem lipolytické aktivity přítomných plísní. Tato sloučenina má specifickou pronikavou vůni s prahem vnímání cca 5 mg/kg.

Dále byly identifikovány sloučeniny typické pro aroma mléčných výrobků, jako je acetoin a 2,3-butandion (diacetyl). Jako další typická sloučeniny modrých sýrů byl identifikován nonan-2-on, který má práh vnímání cca 1,3 mg/kg. Použitá metoda nebyla vhodná pro identifikaci sirných sloučenin (dimethylsulfid, dimethyldisulfid), které vytvářejí další sýrové a česnekové vůně.

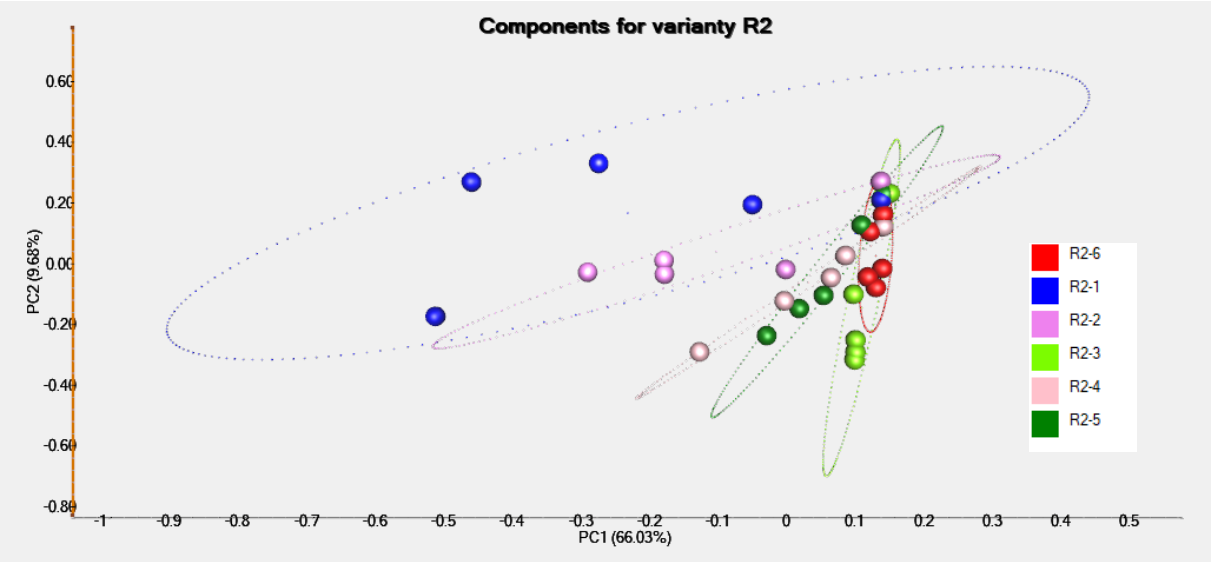
Celkové profily těkavých látek sýrů typu Niva (plochy/1000; pro 45 těkavých sloučenin) byly zhodnoceny pomocí analýzy hlavních komponent PCA (program Statistica 12). Na obrázku 1. je uveden diagram komponentního skóre pro první a druhou hlavní komponentu. Na diagramu jsou zřetelně oddělené tři skupiny vzorků: a) sýry s dobou zrání 4 dny (záporná hodnota první hlavní komponenty); b) sýry zrající 15 dní (kladná hodnota první hlavní komponenty); c) sýry zrající po dobu 30, 43 a 56 dní (nulové hodnoty první hlavní komponenty).



Obrázek 1: Variabilita vzorků zrajících sýrů typu Niva zhodnocená pomocí analýzy hlavních komponent (PCA; diagram komponentního skóre pro 1. a 2. hlavní komponentu), vzorky jsou specifikovány 45 proměnnými (těkavými látkami)

Pro sýry s dobou zrání 4 dny byly charakteristické sloučeniny: acetoin (tr = 12,75 min), kyselina octová (tr = 15,79 min), ethylacetát (tr = 4,13 min) a 2-butanol (tr = 6,45 min). Naopak vzorky sýrů zrající po dobu 15 dní byly specifické vysokým zastoupením následujících ketonů a alkoholů: 2-pentanon (tr = 5,54 min), 2-hexanon (tr = 7,68 min), 2-heptanon (tr = 10,37 min), 2-oktanon (12,61 min), 2-nonanon (tr = 14,51 min) a 8-nonen-2-on (tr = 15,32 min), 2-pentanol (tr = 8,74 min), 2-heptanol (tr = 13,25 min), 2-nonanol (tr = 16,33 min) a aceton (tr = 3,40 min). Vzorky sýrů kontrolní varianty R2/1 se od ostatních variant lišily především vyšším zastoupením kyseliny máselné (tr = 18,10 min), kyseliny hexanové (tr = 20,40 min) a methyl valerátu (tr = 7,83 min). Zastoupení těchto kyselin bylo nejvíce ovlivněno použitou mikrobiální kulturou.

Profily těkavých látek byly také zpracovány necílenou analýzou pomocí vyhodnocovacího softwaru ChromSpace, konkrétně pomocí jeho modulu ChromCompare+ (Obrázek 2). Na uvedeném diagramu PCA jsou zobrazeny vzorky v prostoru první a druhé hlavní komponenty. Jednotlivé varianty sýrů jsou odděleny do shluků, vzorky s nejvyšším obsahem soli (varianty R2/1 a R2/2) jsou typické zápornou hodnotou první hlavní komponenty. Shlukování vzorků koreluje s výsledky cílené analýzy. Profil těkavých látek je nejvíce ovlivněn dobou zrání a technologickým provedením jednotlivých variant.



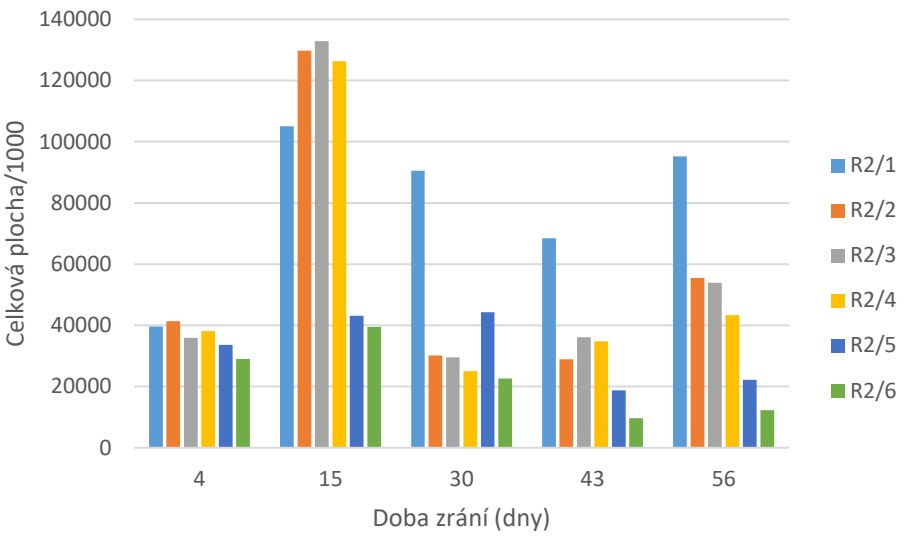
Obrázek 2: Analýza hlavních komponent získaná pomocí softwaru ChromCompare+ pro jednotlivé varianty (PCA; diagram komponentního skóre pro 1. a 2. hlavní komponentu)

V rámci práce byl hodnocen vliv obsahu sodíku a draslíku na profil těkavých látek. Korelace vybraných těkavých látek všech měřených vzorků v závislosti na obsah sodíku a draslíku je uvedena v Tabulce 2. Z výsledků je zřejmé, že obsah sodných iontů (i náhrada za draselné ionty) nemá významný vliv na vybrané těkavé látky. Větší vliv má tedy doba zrání a technologické provedení jednotlivých variant.

Tabulka 2: Korelace (Pearsonův korelační koeficient r) vybraných těkavých látek v závislosti na obsahu sodíku a draslíku

Sloučenina	Obsah sodíku	Obsah draslíku
Aceton	0,11	-0,24
2-Pentanon	-0,13	-0,17
Toluen	0,41	-0,35
Methyl valerát	0,26	-0,28
2-Pentanol	-0,24	-0,09
2-Heptanon	-0,18	-0,18
3-Methyl-1-butanol	-0,07	-0,19
Acetoin	0,10	-0,09
2-Nonanon	-0,20	-0,20
8-Nonen-2-on	-0,18	-0,19
Kyselina octová	0,04	-0,07
Kyselina máselná	0,01	-0,25
Kyselina hexanová	0,16	-0,23
Suma těkavých látek	-0,01	-0,38

Přestože nedošlo k potvrzení korelace obsahu sodíku a draslíku na celkovou sumu ploch těkavých látek, tak bylo zjištěno, že celková plocha píku těkavých látek byla u variant R2/5 a R2/6 nižší (Obrázek 3). Tento rozdíl variant není statisticky průkazný v rámci celkové doby zrání ($p > 0,05$). Při porovnání sumy těkavých látek u sýrů s dobou zrání 15 dnů, byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi variantou R2/1 ($p < 0,01$) a variantou R2/5 a R2/6 ($p < 0,01$).



Obrázek 3: Vliv doby zrání na celkovou plochu těkavých látek

ZÁVĚR

Pro zhodnocení profilu těkavých a senzoricky aktivních sloučenin reformulovaných sýrů byla úspěšně využita metoda plynové chromatografie s hmotnostním a olfaktometrickým detektorem (SPME-GC-MS-O). Naměřené výsledky byly zpracovány pomocí cílené i necílené analýzy. V této práci bylo zjištěno, že významnější vliv na profil těkavých látek má vlastní doba zrání a mikrobiální kultura než obsah sodíku či draslíku v použité receptuře. Získané výsledky ukazují, že snižování (případně náhrada) obsahu soli v sýrech typu Niva je možné bez podstatné změny profilu těkavých látek. Zjištěné výsledky budou ověřovány pomocí dalších modelových vzorků.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla s finanční podporou Národní agentury pro zemědělský výzkum Ministerstva zemědělství České republiky při řešení projektu QK1910100 (Vliv reformulace na trvanlivost a fyzikálně-chemické vlastnosti potravinářských výrobků) v programu ZEMĚ.

LITERATURA:

1. Statistica 12.0 (2011): StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA. Dostupné online: http://www.statsoft.com/ (accessed 2023-11-27).
2. SepSolve Analytical. ChromSpace a ChromCompare+ (USB). Automatický vyhodnocovací software pro GCxMS.
3. ANOVA: https://astatsa.com/OneWay_Anova_with_TukeyHSD/ (accessed 2023-11-27).
4. NIST WebBook Chemie. https://webbook.nist.gov/chemistry/ (accessed 2023-11-20).
5. Odborná zpráva za rok 2022 projektu č. QK1910100 Vliv reformulace na trvanlivost a fyzikálně-chemické vlastnosti potravinářských výrobků podpořeného z „Programu aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství na období 2017-2025: ZEMĚ“.
6. Sablé, S., Cottenceau, G. (1999): Current Knowledge of Soft Cheeses Flavor and Related Compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 47(12), 4825–4836. https://doi.org/10.1021/jf990414f.
7. Le Quéré, J.-L., Molimard, P. (2002) Cheese – Cheese Falvour. V knize: Encyclopedia of Dairy Sciences (Roginski, H. ed.), 330–340, Elsevier. https://doi.org/10.1016/B0-12-227235-8/00069-9.

P11

Antimikrobiálne aktívne substancie produkované kmeňmi *Enterococcus hirae* zo surového kozieho mlieka

Antimicrobial active substances produced by the strains of Enterococcus hirae from raw goat milk

Andrea Lauková, Natália Zábolyová, Monika Pogány Simonová

Centrum biovied SAV v.v.i. Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Šoltésovej 4-6, Košice 040 01 Slovenská republika

SÚHRN

Surové kozie mlieko je vysoko výživný produkt, ktorý oplýva viacerými nutritívne významnými zložkami. Vyznačuje sa aj bohatou mikrobiotou, ktorá zahŕňa ako užitočné, tak aj menej užitočné a tiež nežiaduce baktérie. Práve enterokoky sú kontroverznou skupinou baktérií, ktoré spĺňajú atribúty užitočných, ale aj škodlivých baktérií v závislosti od individuálnych zástupcov. Medzi ich prospešné vlastnosti patrí aj produkcia bakteriocínov- antimikrobiálne pôsobiace substancie proteinového charkteru, ktoré sú najnovšie priradené do skupiny postbiotík. Cieľom tejto práce bolo študovať účinok antimikrobiálnych substancií z kmeňov *Enterococcus hirae* izolovaných zo surového kozieho mlieka a detegovaných sekvenáciou. Koncentrované substancie kmeňov MO7-1, MO8-1 a K6-1 prejavili antimikrobiálnu inhibičnú aktivitu na indikátorový kmeň *Enterococcus avium* EA5 pri aktivite 400-800 AU/ml. Koncentráty zostali aktívne aj po vystavení teplote 80 ˚C 10 minút ako aj pri ostatných testovaných teplotách (100 AU/ml). Počas uskladnenia pri -20˚ C si zachoval koncentrát z kmeňa K6-1 inhibičnú aktivitu 800 AU/ml aj po 3. týždňoch. Pokračujeme v testovaní pre zistenie aplikačných možností daných substancií v mliekarenstve.

Kľúčová slova: *surové kozie mlieko, enterokoky, inhibičné substancie*

SUMMARY

Raw goat milk is nutritionally very effective and rich product. Besides various beneficial components, it contains also microbiota which involves on one side beneficial, less beneficial but on the other side also spoilage microorganisms. Enterococci are controversial bacterial group because they fulfill attributes of beneficial but also of spoilage bacteria depending on individual representative species strains. Among their beneficial properties belong bacteriocins production. They have been belonged to postbiotics nowadays. Bacteriocins, it means antimicrobial effective substances of proteinaceous character. The aim of this work was to study effect of antimicrobial substances produced by the strains *Enterococcus hirae* isolated from raw goat milk and detected using next generation sequencing analysis. Concentrated substances of MO7-1, MO8-1 and K6-1 strains showed antimicrobial inhibitory effect against indicator strain *Enterococcus avium* EA5 with activity 400-800 AU/ml. Concentrates were active also after

exposition at 80 ˚C for 10 min as well as under the other tested temperatures and conditions (100 AU/ml). Concentrate K6-1 has maintained its inhibitory activity during 3 weeks storage at -20˚ C (800 AU/ml). The studies have been in processing to show possibilities for concentrates use in dairy.

Keywords: *raw goat milk, enterococci, inhibitory substances*

ÚVOD

Surové kozie mlieko je vysoko výživný produkt, ktorý oplýva viacerými nutritívne významnými zložkami (Uhrín et al., 2002, Lauková et al., 2022a). Okrem toho však oplýva aj bohatou mikrobiotou (Lauková et al., 2002a,b). Jej súčasťou sú ako žiaduce, tak i menej alebo aj nežiaduce baktérie (Lauková et al., 2022ab). Enterokoky tvoria špecifickú skupinu kyselinu mliečnu produkujúcich baktérií, ktorá zahŕňa aj komenzálne kmene aj nežiaduce kmene v závislosti od jednotlivých vlastností individuálnych baktérií. Enterokoky sú napr. súčasťou fermentačných procesov niektorých tradičných syrov alebo fermentovaných mäsových výrobkov, aby sa rozvinula ich typická chuť (Foulquié Moreno et al., 2006). No viaceré druhy enterokokov aj tých detegovaných v mlieku má schopnosť produkovať antimikrobiálne pôsobiace substancie bielkovinovej povahy-bakteriocíny. Bakteriocíny produkované enterokokmi patria zväčša do skupiny enterocínov (Nes et al., 2014).

Medzi druhmi enterokokov detegovanými v kozom mlieku boli popísaní aj zástupcovia druhu *Enterococcus hirae* (Lauková et al., 2021). Aj tento druh môžeme považovať za kontroverznú spéciu, pretože jeho niektorí zástupcovia môžu spôsobiť enterokokózy (Bino et al., 2018). Avšak boli popísané aj kmene *E. hirae,* ktoré produkujú antimikrobiálne pôsobiace substancie bielkovinovej povahy-bakteriocíny resp. hiracíny (Samir Ananou et al., 2020) Takže aj druh *E. hirae* a jeho zástupcovia spadajú do rozhrania ich posúdenia ako potenciálnych patogénov alebo producentov potenciálne prospešných substancií-postbiotík (Nataraj et al., 2020). Postbiotiká predstavujú metabolické produkty prospěšných baktérií ako sú napr. enzýmy, bielkoviny, mastné kyseliny s krátkym reťazcom, biosurfaktanty, vitamíny, organické kyseliny či amínokyseliny (Fernandes et al., 2019). Cieľom tejto práce bolo predstaviť a študovať antimikrobiálne pôsobiace substancie z kmeňov *E. hirae* izolovaných zo surového kozieho mlieka.

MATERIÁL A METÓDY

Študované kmene boli izolované zo vzoriek surového kozieho mlieka z fariem v oblasti stredného Slovenska v spolupráci s kolegami z Výskumného ústavu mliekarenského a.s. v Žiline). Keďže preukázali dostatočný rast v mlieku, boli nám postúpené na ďalšie analýzy.

Najprv boli kmene MO7-1, MO8-1 a K6-1 kultivované v MRS bujóne (pH 6,7, Merck, Nemecko) pri 37 ˚C cez noc. Následne boli bujónové kultúry centrifugované (10 000 x g) po dobu 30 min a získané supernatanty s pH 4,5 boli ošetrené Chelatonom III (Sigma, Nemecko) a teplotou 80 ˚C 10 minút (na zničenie účinku iných organických substancií) a koncentrované na zariadení Koncentrátor Plus (Eppendorf, Nemecko), čím sme získali zahustenú substanciu tzv. koncentrát. Jeho inhibičná aktivita bola testovaná agar spot testom (De Vuyst et al., 1996) na citlivý indikátor, kmeň *Enterococcus avium* EA5 (náš kmeň).

Inhibičná aktivita bola vyjadrená v arbitrárnych jednotkách na mililiter (AU/ml, čo znamená inhibíciu rastu indikátorového kmeňa koncentrátom z jeho najvyššieho riedenia. Koncentráty boli ošetrené rôznymi teplotami, 10 min pri 80 ˚C, 1-2 h pri 37 ˚C a 1 h pri 60 ˚C ako aj pri uskladnení pri 4 ˚C, pri laboratórnej teplote a pri -20˚ C po dobu 3 týždňov. Rovnako boli vystavené aj pôsobeniu proteolytických enzýmov (trypsín, α-chymotrypsín, pepsín, proteináza) podľa metódy v predchádzajúcich prácach (Lauková et al., 1993).

Napokon boli kmene podrobené sekvenačnej analýze v spolupráci s kolegami z Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach (Dr. Maďar a Dr. Šurín Hudáková) pre ich taxonomické zatriedenie.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri testovaní inhibičnej aktivity sa ako najaktívnejšie prejavili kmene MO7-1, MO8-1 a kmeň K6-1. Pri kmeni MO8-1 a K6-1 bola nameraná inhibičná aktivita 800 AU/ml, keď bol použitý indikátorový kmeň *Enterococcus avium* EA5. *U* kmeňa MO 7-1 dosahovala aktivita 400 AU/ml. Pri kvalitatívnom testovaní inhibičnej aktivity bola veľkosť inhibičnej zóny 10 mm od kmeňa MO 7-1, ale od kmeňov MO 8-1 a K6-1 dosiahla inhibičná zóna v priemere 27 mm a 22 mm.

Koncentráty si zachovali inhibičnú aktivitu aj po vystavení teplote 80 ˚C 10 minút ako aj pri ostatných testovaných teplotách (Tabuľka 1), pričom aktivita dosiahla 100 AU/ml. Pri laboratórnej teplote a pri 4 ˚C inhibičná aktivita koncentrátov dosiahla 100 AU/ml, ale počas uskladnenia pri -20˚ C aj po 3. týždňoch vykázal koncentrát z kmeňa K6-1 inhibičnú aktivitu 800 AU/ml. Doterajší charakter koncentrátov napovedá, že tieto substancie sú teplo-stabilné, a takými sú zväčša enterocíny patriace do II. klasifikačnej skupiny (Nes et al., 2014). Keďže po ošetrení enzýmami nebol zaznamenaný jednoznačný účinok (zachovanie alebo strata aktivity), môžeme sa domnievať, že koncentráty môžu mať aj iný ako len bielkovinový charakter, čo však je potrebné dokázať ďalšími analýzami. Tieto výsledky sú zatiaľ preliminárne, ale radi by sme poukázali na možnosti antimikrobiálneho potenciálu kmeňov *E. hirae* z kozieho mlieka, čo doposiaľ nebolo študované. Samozrejme, pokračujeme tiež v testovaní inhibičnej aktivity proti indikátorom zo surového kozieho mlieka a zo syrov. Doposiaľ bol publikovaný kmeň *E. hirae* OS1 (Samir Ananou et al., 2020) izolovaný z kravského mlieka v Maroku s produkciou antilisteriálne pôsobiaceho bakteriocínu. S rovnakým účinkom bol popísaný i bakteriocín z kmeňa *E. hirae* ST57ACC, ktorý bol izolovaný zo syra (Cavicchioli et al., 2017). Aj v našich predchádzajúcich prácach sme detegovali niektoré fekálne kmene druhu *E. hirae* zo zvierat (Lauková et al., 2016, 2019), ktoré boli antimikrobiálne aktívne resp. produkovali inhibične pôsobiacu substanciu, ale nebol u nich preukázaný gén pre produkciu hiracínu. Avšak, detegované u nich boli gény pre produkciu iných enterocínov (Lauková et al., 2016).

Produkčné kmene boli hemolýza-negatívne. Sekvenačnou analýzou boli priradené ku druhu *E. hirae*, keď zhoda nukleotidových sekvencií so sekvenciami typových kmeňov v GenBanku dosiahla 99,82%.

Tabuľka 4: Inhibičná aktivita koncentrátov z kmeňov *Enterococcus hirae* vystavených rôznym teplotám vyjadrená v arbitrárnych jednotkách na mililiter (AU/ml) testovaná na indikátorový kmeň *Enterococcus avium* EA5

Koncentrát	80˚C 10 min	37 ˚C, 1 h	37˚C, 2 h	60˚ C, 1 h	- 20˚ C 3.t.	4 ˚C	LT	Pôvodná aktivita
MO7-1	100	100	100	100	100	100	100	400
MO8-1	100	100	100	100	100	100	100	800
K6-1	100	100	100	100	800	100	100	800

3.t.-3. týždne, LT-laboratórna teplota; h-hodina,

ZÁVER

Koncentrované substancie kmeňov MO 7-1, MO 8-1 a K6-1 prejavili antimikrobiálnu inhibičnú aktivitu na indikátorvý kmeň *Enterococcus avium* EA5 pri aktivite 400-800 AU/ml. Koncentráty zostali aktívne aj po vystavení teplote 80 ˚C 10 minút ako aj pri ostatných testovaných teplotách pri aktivite 100 AU/ml. Počas uskladnenia pri -20˚ C aj po 3. týždňoch vykázal koncentrát z kmeňa K6-1 inhibičnú aktivitu 800 AU/ml. Doterajší charakter koncentrátov napovedá, že tieto substancie sú teplo-stabilné. V ich testovaní pokračujeme pre budúcu možnú aplikáciu v mliekarenstve. Produkčné kmene boli sekvenáciou priradené ku druhu *E. hirae*, keď zhoda nukleotidových sekvencií so sekvenciami typových kmeňov v GenBanku dosiahla 99,82%.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Slovenskou agentúrou pre rozvoj a výskum APVV, projekt APVV-20-0204. Ďakujeme pani Danke Melišovej za laboratórnu pomoc. Niektoré údaje boli uvedené v článku autorov Lauková a kol. s názvom „Surové kozie mlieko-zdroj antimikrobiálne efektívnych kmeňov Enterococcus hirae“ v Slovenskom veterinárskom časopise (2023, v tlači).

LITERATÚRA

1. Bino E, Lauková A, Kandričáková A, Nemcová R. 2018. Assessment of biofilm formation by faecal strains of *Enterococcus hirae* from different species of animals. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 21, 4, 747-754. doi:10.24425/124314.
2. Cavicchioli VQ, Camargo AC, Todorov SD, Nero LA.2017. Novel bacteriocinogennic *Enterococcus hirae* and *Pediococcus pentosaceus* strains with antilisterial activity isolated from Brazilian artisanal cheese. *Journal of Dairy Science*, 100, 2526-2535.
3. Fernandes SS, Coelho MS, de las Mellado MM. 2019. Bioactive compounds as ingredients of functional foods:polyphenols, carotenoids, peptides from animal and plant sources new.In:Maria RSC, editor. Bioactive coumpound. cambridge:Woodhead Publishing-Elsevier, p. 129-142.
4. Foulquié-Moreno MR, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, De Vuyst L. 2006. The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*,106, 1-24.
5. De Vuyst L, Callewaert R, Bruno P. 1996. Characterization of antagonistic activity of *Lactobacillus amylovorus* DCE471 and large-scale isolation of its bacteriocin amylovorin L471. *Systematic and Applied Microbiology,* 19, 9-20.
6. Lauková A, Mareková M, Javorský P.1993. Detection and antimicrobial spectrum of a bacteriocin-like substance produced by *Enterococcus faecium* CCM4231. *Letters in Applied Microbiology* 16,257-260.
7. Lauková A, Kandričáková A, Ščerbová J. 2016. Enterococci isolated form farm ostriches and their relation to enterocins. *Folia Microbiologica* 61, 275-281.

8. Lauková A, Bino E, Ščerbová J.2019. Domestic fowl of ducks, a source of faecal bioactive *Enterococcus hirae* strains. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 22, 3, 505-512.2019.
9. Lauková A, Focková V, Pogány Simonová M. 2021. Enterococcal species associated with Slovak raw goat milk, their safety and susceptibility to lantibiotics and Durancin ED26E/7. *Processes*, 9, 681. https://doi.org/10.3390/pr9040681.
10. Lauková A, Pogány Simonová M, Focková V, Tomáška M, Drončovský M, Vargová M, Dvorožňáková. 2022a. Slovak raw goat milk as a source of variable, biofilm-forming staphylococci, and their susceptibility to lantibiotic bacteriocins. *JSFA Reports*, 2, 40-47.
11. Lauková A, Micenková L, Grešáková Ľ, Maďarová M, Pogány Simonová M, Focková V, Ščerbová J. 2022b. Microbiome associated with Slovak raw goat milk, trace minerals, and vitamin E content. *International Journal of Food Science* ID 4595473, 8 pages, https://doi.org/10.1155/2022/4595473.
12. Nataraj BH, Syed Azmal Ali, Behare PV, Yadav H. 2020. Postbiotics-parabiotics:the new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microbial Cell Factories* ,19, 168.
13. Nes IF, Diep DB, Moss MO. 2014. Enterococcal bacteriocins and antimicrobial proteins that contribute to niche control. In Enterococci from Commensals to leading of Drug Resistant Infection, Messachussets Eye and Ear:Boston, Maryland, USA, pp. 1-34.
14. Samir Ananou, Lotfi Soukaina, Azdad Ouarda, Nyozikorera Nehemie. 2020. Production, recovery and characterization of an Enterocin with anti-listerial aktivity produced by *Enterococcus hirae* OS1. *Applied Food Biotechnology* 7,2,102-114.
15. Uhrín V, Lauková A, Jančová A, Plintovič V. 2002. Mlieko a mliečna žľaza /in Slovak) Milk and Mammary gland. Publ. No. 92, Faculty of Natural Sciences of the University of Constantinus Philosophus, Nitra, Slovakia, p. 5-167. ISBN 80-8050-511-X.

KONTAKTNÁ ADRESA

MVDr. Andrea Lauková, CSc. (PhD), Centrum biovied SAV v.v.i. Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovenská republika, email:laukova@saske.sk

P12

Využitie bakteriocínov na inhibíciu stafylokokov detegovaných v surovom kozom mlieku

Bacteriocins utilization to inhibit staphylococci detected in raw goat milk

Andrea Lauková, Natália Zábolyová, Monika Pogány Simonová

Centrum biovied SAV v.v.i. Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovenská republika

SOUHRN

Surové kozie mlieko je obľúbené medzi spotrebiteľmi. Čoraz častejšie je označované ako funkčná potravina kvôli výhodným nutričným vlastnostiam. Aj keď sú dodržiavané potrebné opatrenia pri produkcii surového kozieho mlieka, môže dochádzať ku jeho kontaminácii. Častou mikrobiotou detegovanou v surovom kozom mlieku sú stafylokoky, ktorých prítomnosť však nie je žiaduca. Na ich elimináciu je možné využiť substancie bielkovinovej povahy s inhibičným účinkom-bakteriocíny/lantibiotické bakteriocíny (pre obsah špecifických bielkovín lantionín a metyllantionín). Cieľom tejto práce bolo *in vitro* testovanie inhibičného účinku lantibiotického bakteriocínu nizín na stafylokoky zo surového kozieho mlieka. Stafylokoky boli citlivé ku nizínu, keď z 28 testovaných kmeňov (v rámci 37 detegovaných) boli všetky kmene citlivé ku nizínu pri inhibičnej aktivite od 100 do 102 400 AU/ml (9 kmeňov nebolo testovaných). Najmenej citlivý bol ku nizínu kmeň *Staphylococcus pasteuri* SPs 14/1 (100 AU/ml), ktorý bol silne biofilm-formujúci (2.370). Väčšina testovaných kmeňov prejavili slabú/strednú schopnosť formovať biofilm. *S. xylosus* SX17/1 bol vysoko biofilm-formujúci (3.163 ± 1.77). Najcitlivejšie ku nizínu boli kmene S. *equorum* Sq40/2, *S. hominis* SHo33/2 a *S. xylosus* 38/3. V rámci druhov boli v priemere najcitlivejšie ku nizínu kmene z druhov *S. lentus* a *S. hominis*. Nizín sa javí ako efektívny prostriedok pri prevencii či eliminácii kontaminantov v surovom kozom mlieku.

Kľúčová slova: *stafylokoky, inhibícia, bakteriocíny, kozie mlieko*

SUMMARY

Raw goat milk is popular among consumers. It is more frequently indicated also as functional food because of its suitable nutritional properties. Although requested criteria are kept during producing raw goat milk, contamination can appear. The frquent microbiota detected in raw goat milk are staphylococci. However, their presence is non-requested in raw goat milk. To eliminate them, inhibitory activity of antimicrobial proteinaceous substances-bacteriocins and/or lantibiotic bacteriocins (content of amino acids lantionin and β-methyllanthionin) can be used. The aim of this study was *in vitro* testing of inhibitory effect of lantibiotic bacteriocin nisin against staphylococci detected from raw goat milk. Staphylococci were susceptible to nisin when 28 out of 37 detected strains were susceptible to nisin with

inhibitory activity ranging from 100 up to 102 400 AU/ml (9 strains were not tested). The least susceptible to nisin was *Staphylococcus pasteuri* SPs 14/1 (100 AU/ml). It was, however, detected as high-grade biofilm positive strain (2.370). The most of tested strains were low-grade biofilm forming. *S. xylosus* SX17/1 was high-grade biofilm positive (3.163 ± 1.77). The most susceptible to nisin were the strains S. *equorum* Sq40/2, *S. hominis* SHo33/2 and *S. xylosus* 38/3. Regarding the species, the most susceptible to nisin were strains species *S. lentus* and *S. hominis*. Nisin looks as functional tool to prevent/eliminate contaminants in raw goat milk.

Keywords: *staphylococci, inhibition, bacteriocins, goat milk*

ÚVOD

I napriek zásadným opatreniam pri produkcii surového kozieho mlieka, môže dochádzať ku jeho kontaminácii vplyvom rôznorodých vonkajších faktorov. V rámci bakteriálnych kontaminantov napr. väčšina stafylokokov, ktoré boli v kozom mlieku detegované patria ku skupine biofilm-formujúcich baktérií (Srey et al., 2013). Tvorba biofilmu je chápaná pri kontaminantných baktériách ako jeden z faktorov virulencie (Parsek a Singh, 2003). Takže výskyt kontaminantných baktérií sťažuje technologický proces spracovania mlieka, a taktiež môžu ohroziť zdravie konzumentov mlieka. Najmä pri salašníckom spôsobe produkcie, kde nie sú vždy dostupné bežné spôsoby eliminácie nežiaducej mikrobioty je potrebné brať viac do úvahy preventívne opatrenia, ale aj také opatrenia a spôsoby, ktoré využívajú možnosti skôr naturálnej povahy. A práve bielkovinové substancie s inhibičným účinkom (bakteriocíny alebo aj lantibiotiká), produkované niektorými baktériami najmä kyselinu mliečnu produkujúcimi môžu byť tou naturálnou cestou prevencie či eliminácie. Preto aj cieľom tejto práce bolo *in vitro* testovanie účinku lantibiotického bakteriocínu nizín na stafylokoky izolované zo surového kozieho mlieka získaného z fariem v centrálnom a východnom regióne Slovenska. Kozie mlieko sa stále častejšie označuje aj termínom funkčná potravina, nakoľko je nutrične veľmi bohaté a výhodné, a preto je vyhľadávaným nutričným artiklom (Lauková et al., 2022).

Nizín je lantibiotický bakteriocín, peptid pozostávajúci z 34 amínokyselín s molekulovou hmotnosťou 3.5 kDa, ktorý bol po prvý krát popísaný ako produkt kmeňa druhu *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (Hurst,1981) s predominantným účinkom na Gram-pozitívne baktérie (Jack et al. 1998).

MATERIÁL A METÓDY

Detegované stafylokoky

Zo zdravých zvierat (kôz) v rámci stredného a východného Slovenska (283) bolo získaných 53 vzoriek surového kozieho mlieka, pričom 51 vzoriek bolo od individuálnych zvierat a 2 vzorky boli zmesné (od 132 zvierat). Vzorky mlieka boli v laboratóriu spracované štandardnou mikrobiologickou metódou podľa ISO 6888 (International Organization for Standardization). Následne boli vzorky mlieka vyriedené v Ringerovom roztoku (pH 7,0, Merck, Darmstadt, Nemecko) a boli vysievané na Manitol Salt agar (MSA, Becton a Dickinson, Sparks, Maryland, USA). Kultivácia v termostate prebiehala počas 48 h pri 37 ˚C. Narastené a odpichnuté kolónie boli kontrolované na puritu a identifikované pomocou MALDI-TOF identifikačného systému. Identifikácia bola doplnená aj fenotypizáciou pomocou

API STAPH kitu (Bio Merioux, Marcy-lEtoile, Francúzsko). Detegovaných bolo 37 kmeňov patriacich ku 14 druhom stafylokokov ako sú *Staphylococcus arlettae, S. capitis, S. delphini, S. epidermidis, S equorum, S. hominis, S. lentus, S. pasteuri, S. sciuri, S. simulans, S. schleiferi, S. vitulinus, S. warneri a S. xylosus.* Okrem základných vlastností (hemolýza, deoxyribonukleázová aktivita, citlivosť ku antibiotikám) bola u týchto kmeňov sledovaná aj schopnosť tvoriť biofilm (Chaieb et al., 2007) a Slížová et al. (2015).

Citlivosť stafylokokov ku nizínu

Nizín použitý v tejto štúdii (3354.07 g/ml) bol získaný z firmy Aplin a Barrett Ltd. Dorset, Veľká Británia). Rozhodli sme sa pre tento bakteriocín na základe našich predchádzajúcich výsledkov (Lauková et al., 2014) a tiež preto, že je povoleným vo viacerých krajinách ako E 234 na využitie v potravinárskom priemysle. Použitý bol v koncentrácii 0.5 mg/ml v dávke 10 µg. Citlivosť stafylokokov ku nizínu bola testovaná agar spot testom (De Vuyst et al., 1996) na BH agare (Difco) s použitím 0,7% BH agaru s nočnou kultúrou indikátorového kmeňa v BH bujóne (Difco). Inhibičná aktivita nizínu na indikátorové stafylokoky bola vyjadrená v arbitrárnych jednotkách na mililiter (AU/ml), čo vyjadruje najvyššie riedenie bakteriocínu, ktoré spôsobí inhibíciu testovaného indikátorového kmeňa.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kmene stafylokokov zaradených ku 14 druhom boli testované na schopnosť formovať biofilm a následne bola testovaná ich citlivosť ku lantibiotickému bakteriocínu nizín. Keďže v rámci detegovaných a taxonomicky zatriedených kmeňov bola zaznamenaná značná variabilita môžeme konštatovať, že surové kozie mlieko sa vyznačuje bohatou mikrobiotou. Spomínaných 14 detegovaných druhov patrí ku 7 stafylokokovým klusterom/skupinám (Takashi et al., 1999), pričom doposiaľ už bolo taxonomicky validovaných až 60 druhov stafylokokov. Lauková et al. (2022) popísali pri analýze metódou next generation sequencing dominanciu fyla/kmeňa Actinobacteria (62.8%). S druhou najvyššou abundanciou bol detegovaný fylum/kmeň Firmicutes (20.5%), potom Proteobacteria (7.4%) a Bacteroides (6.4%). Z čeľadí dominovala čeľaď Microbacteriacae, a potom čeľaď Staphylococcacae. A práve stafylokoky sú z ostatne menovanej čeľade Staphylococcacae a z fyla Firmicutes. Dôležité je spomenúť, že koaguláza-pozitívny kontaminantný (KoPS) druh *S. aureus* nebol detegovaný v kozom mlieku, aj keď ďalšie KoPS napr. *S. delphini* a *S. schleiferi* boli detegované, ale väčšina kmeňov patrili ku koaguláza-negatívnym stafylokokom (KoNS). Rovnako dôležité je zistenie, že dané stafylokoky boli citlivé ku lantibiotickému bakteriocínu nizín, keď z 37 kmeňov (9 nebolo testovaných) a z 28 testovaných ki nizínu všetky boli citlivé ku nizínu pri inhibičnej aktivite od 100 do 102 400 AU/ml (Tabuľka č. 1). Najmenej citlivý bol ku nizínu kmeň *Staphylococcus pasteuri* SPs 14/1 (100 AU/ml), ktorý vykázal silnú schopnosť formovať biofilm (Tabuľka 1, 2.370). Väčšina testovaných kmeňov boli so slabou alebo strednou schopnosťou formovať biofilm (Tabuľka č. 1). Niektoré kmene túto schopnosť nemali. Najvyššia hodnota pri biofilme bola zaznamenaná u kmeňa *S. xylosus* SX17/1 -3.163 (±SD 1.77). Najvyššiu citlivosť ku nizínu prejavili kmene S. *equorum* Sq40/2, *S. hominis* SHo33/2 a *S. xylosus* 38/3, ktorý prejavil slabú schopnosť tvorby biofilmu (0.280). Z hľadiska druhu boli v priemere najcitlivejšie ku nizínu kmene druhu *S. lentus* a *S. hominis* (Tabuľka 1). Citlivosť

stafylokokov ku nizínu umožňuje jeho využitie na prevenciu, ale aj elimináciu kontaminantných stafylokov. Nizín je známy ako E 234, a preto jeho použitie týmto smerom je dôležitou informáciou nielen pre odborníkov, ale aj pre spotrebiteľskú verejnosť. A to aj v prípade, že dané kmene by boli rezistentné na antibiotiká, Je známe, že bakteriocíny a teda aj nizín nezanechávajú reziduá v mlieku (Nascimento et al., 2006.)

Tabuľka 1: Citlivosť kmeňov stafylokokov ku nizínu a ich schopnosť formovať biofilm

Druh	Počet testovaných/Počet inhibovaných	Inhibičná aktivita (AU/ml)	Biofilm
S. arlettae	2/2	25 600, 51 200	0.222,0.119
S. capitis	1/1	400	0.108
S. delphini	1/1	25 600	0.100
S. epidermidis	2/2	800, 3 200	0.535,1.503
S. equorum	2/2	1600,102 400	0.141
S. hominis	5/5	51 200-102 400	0.168-2.788
S. lentus	2/2	12 800, 25600	0.092,0.110
S. pasteuri	1/1	100	2.370
S. sciuri	1/1	25 600	0.064
S. simulans	1/1	3 200	0.420
S. schleiferi	1/1	25 600	0.089
S. vitulinus	1/1	51 200	nt
S. warneri	2/2	100, 6 400	0.202-0.969
S. xylosus	6/6	100-102 400	0.284-3.163

S. hominis-5 kmeňov nebolo testovaných ku nizínu; *S. sciuri* 50/1 nebol testovaný na citlivosť ku nizínu ako aj 1 kmeň *S. warneri* a 2 kmene *S. xylosus.* Biofilm: silno biofilm-formujúci ($A_{570} \geq 1$), slabo/stredne biofilm - formujúci ($0.1 \leq A_{570} < 1$), negatívny: $A_{570} < 0.1$; nt-netestovaný

ZÁVER

Všetky testované stafylokoky (KoNS aj KoPS) boli citlivé ku lantibiotickému bakteriocínu nizín pri inhibičnej aktivite od 100 do 102 400 AU/ml bez rozdielu či boli biofilm-formujúce.Keďže v surovom kozom mlieku bola preukázaná výrazná variabilita stafylokokovej mikrobioty, využitie tohoto bakteriocínu známeho ako E 234 je aplikovateľné práve pre prevenciu/elimináciu kontaminantov tohoto typu v surovom kozom mlieku.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Slovenskou agentúrou pre rozvoj a výskum APVV, projekt APVV-20-0204, ale aj APVV-17-0028. Ďakujeme pani Danke Melišovej za laboratórnu pomoc. Niektoré výsledky už boli publikované v časopise JSFA Reports 2022, 2,40-47 s názvom Slovak raw goat milk as a source of variable, biofilm-producing staphylococci and their susceptibility to lantibiotic bacteriocins, autorov Lauková, A., Pogány Simonová, M., Focková, V., Tomáška, M., Drončovský, M., Vargová, M. a Dvorožňáková, E. doi:10.1002/jsf2.27

LITERATÚRA

1. De Vuyst L, Calleawaert R, Bruno P. Characterization of antagonistic aktivity of *Lactobacillus amylovorus* DCE471 and large-scale isolation of its bacteriocin amylovorin L471. 1996. *Systematic and Applied Microbiology*, 19, 9-20.
2. Hurst A. Nisin.1981. *Advance in Applied Microbiology*, 27, 85-123.https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70342-3.
3. Chaieb K, Chehab O, Zmantar T, Rouabhia M, Mahdouani K, Bakrhouf A. 2007. *In vitro* effect of pH and ethanol on biofilm formation by clinical *ica*-positive *Staphylococcus epidermidis* strains. *Annals in Microbiology*, 57,431-437.
4. Jack RW, Bierbaum G, Sahl HG. 1998. Lantibiotics and related peptides. New York, Springer.
5. Lauková A, Chrastinová Ľ, Plachá I, Kandričáková A, Szabóová R, Strompfová V. et al. 2014. Beneficial effect of lantibiotic nisin in rabbits husbandry. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 6, 41-46. https://doi.org/10.1007/s12602-014-9156-4 2014.
6. Lauková A, Pogány Simonová M, Focková V, Tomáška M, Drončovský M, Vargová M, Dvorožňáková. 2022. Slovak raw goat milk as a dource of variable, biofilm-forming staphylococci, and their susceptibility to lantibiotic bacteriocins. *JSFA Reports*, 2, 40-47.
7. Nascimento JS, Ceotto H, Nascimento SB, Giambiagi-De Marval M, Santos KRN, Bastos MCF. 2006. Bacteriocins as alternative agents for control multiresistant staphylococcal strains. *Letters in Applied Microbiology*,42, 215-21.
8. Parsek MR, Singh PK. 2003. Bacterial biofilms:an emerging link to disease pathogenesis. *Annals Review in Microbiology*, 57, 677-701.
9. Slížová M, Nemcová R, Maďar M, Hádryová J, Gancarčíková S, Popper M et al.2015. Analysis of biofilm formation by intestinal lactobacilli. *Canadian Journal of Microbiology*, 61, 437.
10. Srey S, jahid IK, Ha DS. 2013. Biofilm formation in food industries:a food safety concern. Food Control, 31, 572-585. https://doi.org/10.1016/j.foodcon.2012.12.001.
11. Takashi T, Satoh I, Kikuchi N. 1999. Phylogenetic relationship of 38 taxa of the genus *Staphylococcus* based on 16S rRNA gene sequence analysis. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49, 725-8.

KONTAKTNÁ ADRESA

MVDr. Andrea Lauková, CSc. (PhD), Centrum biovied SAV v.v.i. Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovenská republika, email:laukova@saske.sk

P13

Tepelná stabilita recyklovaného PET pro potravinářské použití

The thermal stability of recycled PET for foodcontact

Michal Mrlík, Lukáš Vápenka

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Obaly z polyethylentereftalátu (PET) používané v potravinářském průmyslu jsou zátěží pro životní prostředí, jelikož se jedná obvykle o výrobky na jedno použití a jejich produkce celosvětově neustále roste. Proto bude v Evropské unii od roku 2025 povinný přídavek min. 25 % recyklované suroviny do nápojových lahvích z PET.

Během záhřevu vzorků na teplotu tání (260 °C) dochází k jejich degradaci, kterou lze pozorovat jako úbytek hmotnosti. U vzorků panenského PET došlo během 24 hodin záhřevu k poklesu hmotnosti v rozmezí 6,43-9,22 %. U recyklovaných vzorků (rPET) se hmotnost snížila o 6,09-11,83 %.

Pomocí TGA (termogravimetrie) bylo zjištěno, že vzorky rPET jsou náchylnější k tepelnému namáhají, jelikož nejvyšší úbytek hmotnosti nastává při nižší teplotě v porovnání s panenským PET. Maximum derivace TGA je u rPET 511-522 °C, u panenského PET 524-535 °C. Naopak vzorky rPET vykazují vyšší zbytkovou hmotnost po záhřevu, při 600 °C zbývá 12,43-13,90 % původní hmotnosti, u panenských vzorků je to v rozmezí 10,96-11,82 %.

Klíčová slova: *polyethylentereftalát, PET, recyklace, degradace, TGA*

SUMMARY

Polyethylene terephthalate (PET) packaging used in the food industry is a burden on the environment, as it is usually a single-use product and its production is constantly increasing worldwide. Therefore the addition of at least 25% recycled raw materials in PET beverage bottles will be obligatory in the European Union from 2025.

During the heating of the samples to the melting temperature (260 °C), their degradation occurs, which can be observed as a loss of weight. Virgin PET samples experienced a weight loss in the range of 6.43-9.22% during 24 hours of heating. For recycled samples (rPET), the weight decreased by 6.09-11.83%.

Using TGA (thermogravimetry), rPET samples were found to be more susceptible to thermal stress, as the highest weight loss occurs at a lower temperature compared to virgin PET. The maximum TGA derivation is for rPET 511-522 °C, for virgin PET 524-535°C. On the contrary, rPET samples show a higher residual weight after heating, at 600 °C 12.43-13.90% of the original weight remains, for virgin samples it is in the range of 10.96-11.82%.

Keywords: *polyethylene terephthalate, PET, recycling, degradation, TGA*

ÚVOD

Celosvětová produkce plastů neustále roste. V roce 2022 bylo vyprodukováno 400,3 milionů tun plastů (v roce 2000 to byla polovina). Celosvětově 40 % plastů je spotřebováno na obaly a jde tak o nejvýznamnější segmentem, další tři největší segmenty (stavebnictví, automobilový průmysl a elektronika) spotřebují ročně méně plastů než samotné obaly. Polyethylentereftalát (PET) patří do skupiny šesti plastů s největší produkcí[1-3].

Obaly z plastů jsou obvykle jednorázové, z hlediska biodegradace jsou ovšem velmi stabilní a v životním prostředí způsobují značné problémy (poškozují především mořské ekosystémy, plasty tvoří více tři čtvrtiny z odpadu nalezeného v mořích EU, většina z nich je na jedno použití)[3, 4].

Z těchto důvodů v roce 2019 vyšla v platnost směrnice EU, která zavádí od roku 2025 povinný přídavek alespoň 25 % recyklované suroviny v nápojových lahvích z PET, od roku 2030 o dalších pět procent více. Z důvodu vysoké poptávky po rPET potravinářské kvality, a tedy i vyšší ceny, je potřeba brát v úvahu riziko záměny rPET za panenský PET[4-6]. Z těchto důvodů byla zkoumána tepelná stabilita jakožto potenciální marker rPET.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Vzorky

Testováno bylo celkově 10 vzorků PET od pěti různých subjektů. Vzorky byly ve formě granulátů (5 panenských, 5 rPET).

Izotermický záhřev v termostatu

Termostat s nucenou ventilací UF75 (Memmert, Německo), analytické váhy HR-200-EC (A&D Instruments LTD., Japonsko), porcelánové spalovací kelímky – horní průměr 50 mm, objem 45 ml (JiPo, ČR).

Vzorky PET byly vysušeny v termostatu (105 °C, 3 h) a následně byly naváženy do porcelánových kelímků (3 g). Kelímky byly v termostatu zahřívány v běžné atmosféře po dobu 6 hodin na 260 °C (teplota tání PET). Po zchladnutí v exikátoru byly zváženy a znovu zahřívány za stejných podmínek, celkově čtyřikrát (dohromady 24 h). Sledován byl procentuální úbytek hmotnosti v čase. Byla provedena tři paralelní stanovení.

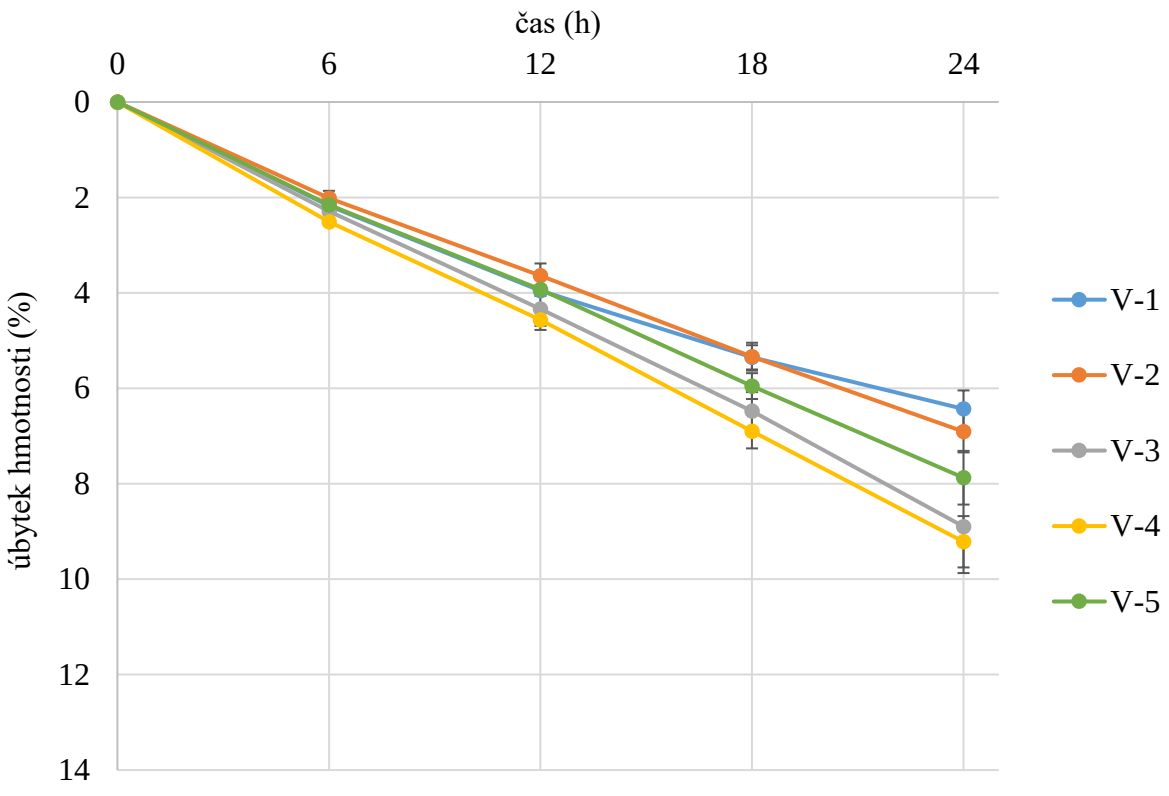
TGA

Vzorky byly umístěny do spalovacích kelímků a zahřívány v termogravimetru TGA 7 (Perkin Elmer, USA) od 25 °C do 600 °C (gradient 20 °C/min) v inertní atmosféře dusíku (průtok 20 ml/min), celková doba analýzy 29 min. Sledován byl pokles hmotnosti v závislosti na narůstající teplotě, vypočtena byla první derivace a hmotnost residuí po záhřevu (vyjádřeno jako procento z původního vzorku). Byla provedena tři paralelní stanovení.

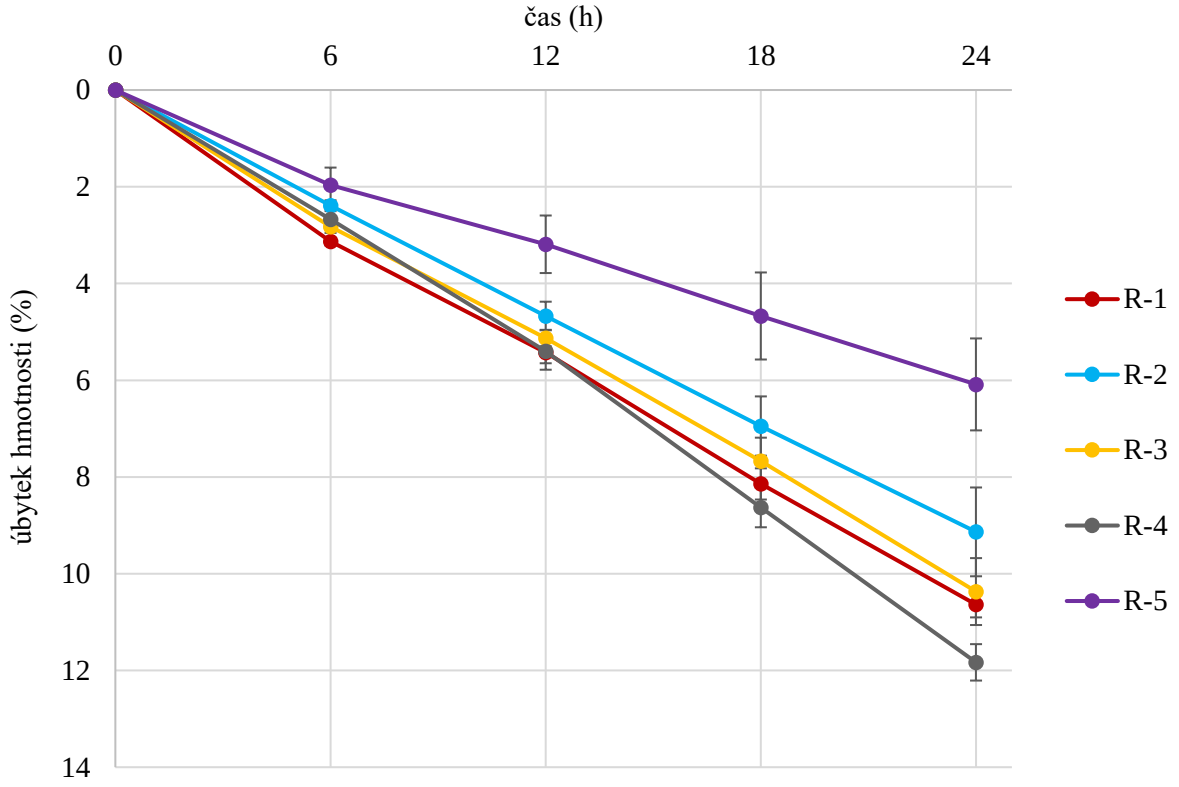
VÝSLEDKY A DISKUZE

Při izotermickém záhřevu PET na teplotu 260 °C docházelo u všech vzorků k poklesu hmotnosti v důsledku jejich degradace vlivem tepla. Tento pokles byl prakticky lineární ve sledovaném období 24 hodin (měřeno v 6 h intervalech). Po 24 hodinách došlo u panenského PET k poklesu hmotnosti od 6,43 do 9,22 %, tři vzorky rPET vykazovali významnější pokles hmotnosti než panenský PET (vzorek R-3: 10,37 %, R-1: 10,64 % a R-4 11,83 %), u vzorku R-2 došlo ke snížení hmotnosti o 9,13 %, což je srovnatelné s nejvíce degradujícím panenským vzorkem (V-4: 9,22%). Jeden rPET vzorek se odlišoval, měl vůbec nejvyšší tepelnou odolnost, jelikož došlo k poklesu hmotnosti o 6,09 %.

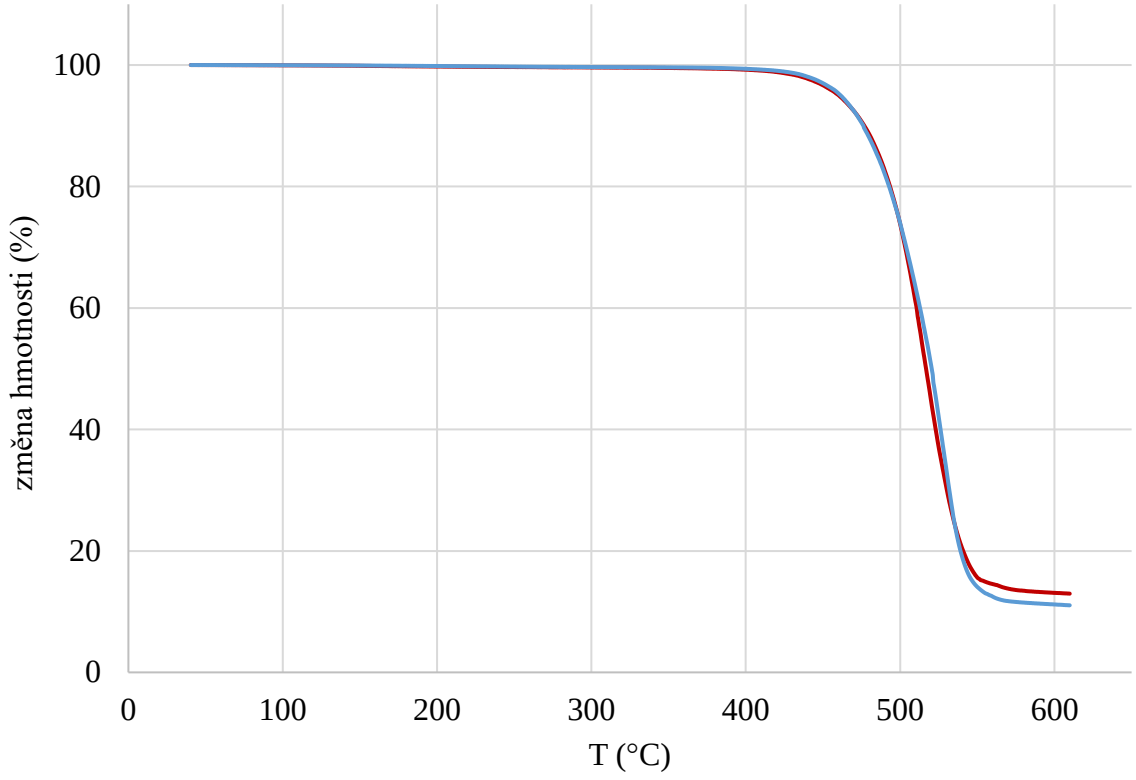
TGA analýzou bylo zjištěno, že při zahřívání s lineárním nárůstem teploty v inertní atmosféře jsou vzorky rPET méně stabilní než vzorky panenské. Na obrázku 5 lze pozorovat srovnání průměrných derivací, kdy maximum derivace TGA je u rPET 518 °C (od 511 do 522 °C), u panenských PET 529 °C (od 524 do 535 °C). Degradace rPET vzorků nastává si již při nižší teplotě, avšak při dosažení konečné teploty (600 °C) zůstává vyšší hmotnost residuí. Po záhřevu rPET vzorků zbývá průměrně 13,07 % původní hmotnosti (od 12,43 do 13,90 %), u panenských vzorků 11,29 % (od 10,96 % do 11,82 %), viz obrázek 6.



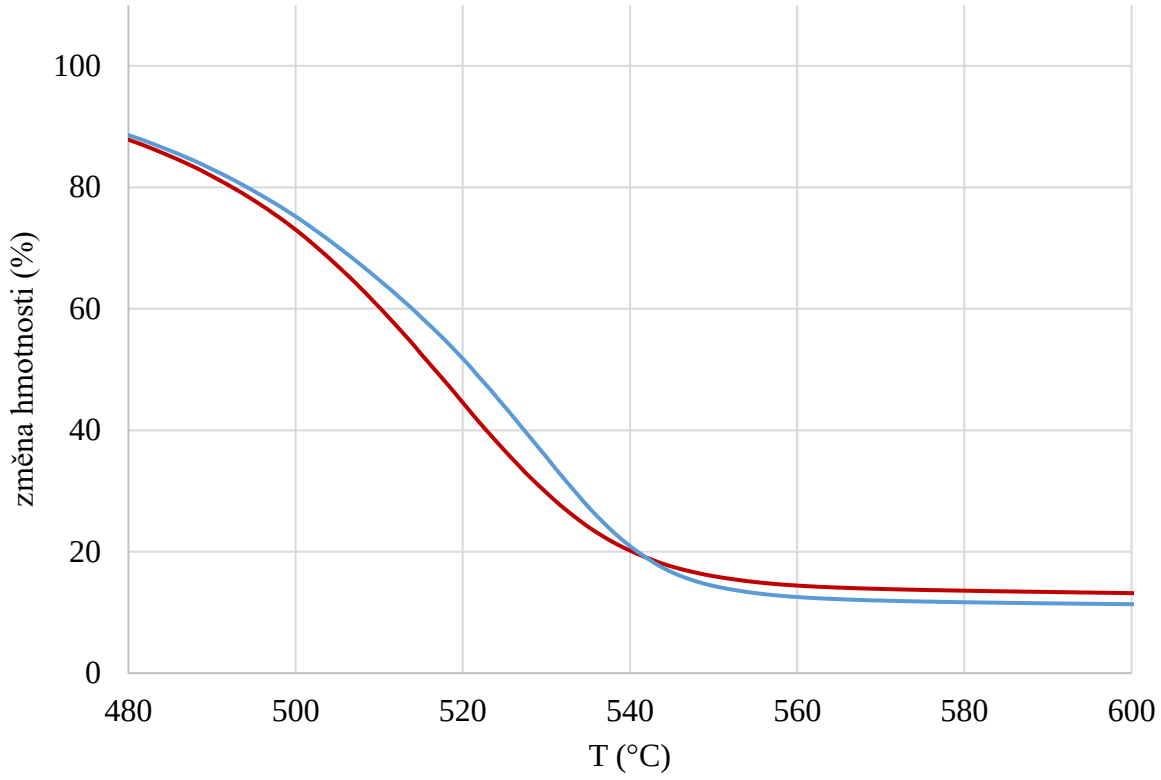
Obrázek 1: Změna hmotnosti při záhřevu na teplotu tání (260 °C) v běžné atmosféře – panenský PET



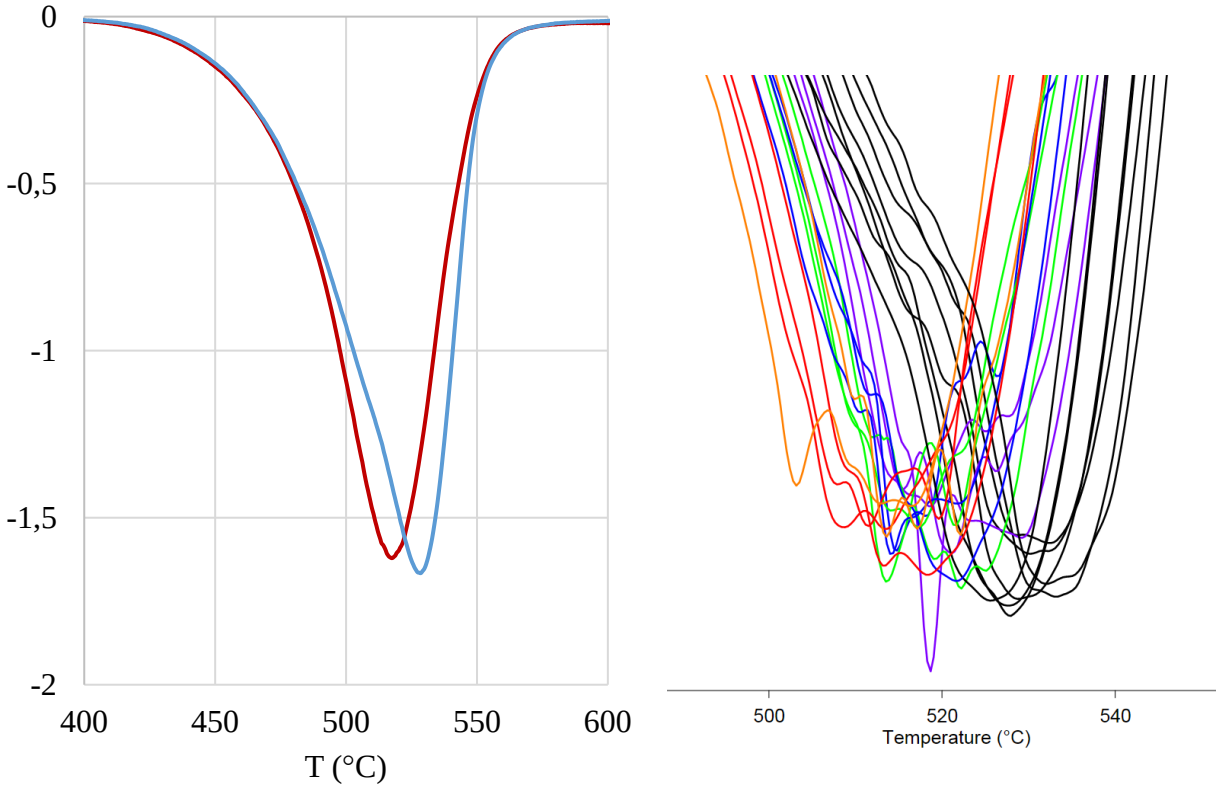
Obrázek 2: Změna hmotnosti při záhřevu na teplotu tání (260 °C) v běžné atmosféře – rPET



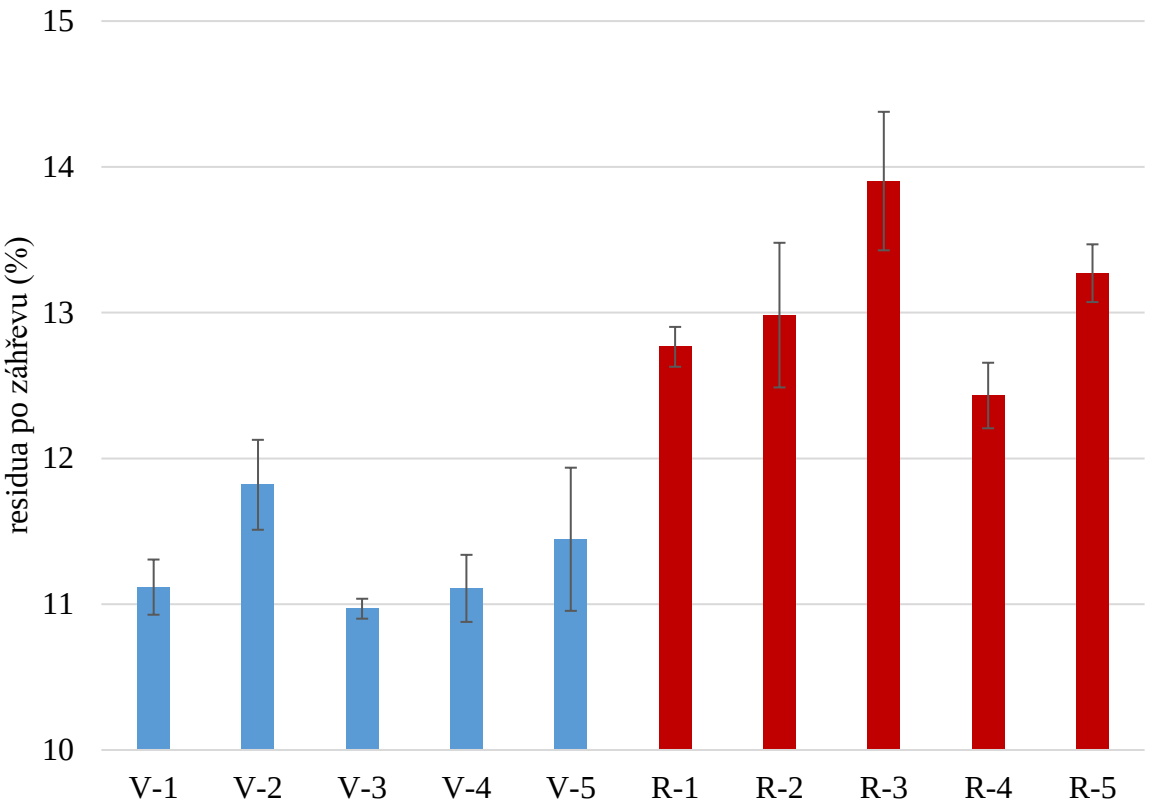
Obrázek 3: TGA – celkový průběh analýzy (průměr vzorků rPET a panenského PET)
panenský PET modrá barva, rPET červená barva



Obrázek 4: Detail grafu na obrázku 3



Obrázek 5: První derivace grafu na obrázku 3. Vlevo průměr vzorků rPET (červeně) a panenského PET (modře). Vpravo detail záznamu pro jednotlivé vzorky – panenské vzorky černě, rPET vzorky barevně



Obrázek 6: residua po záhřevu – procento z původní hmotnosti vzorku při dosažení konečné teploty (600 °C), modré sloupce – panenský PET, červené – rPET

ZÁVĚR

Tepelná stabilita vzorků PET byla testována dvěma různými přístupy. Jednak za izotermických podmínek v termostatu, kdy byly vzorky vystaveny teplotě 260 °C, která byla zvolena jakožto přibližná teplota tání PET. Měření probíhalo 24 hodin, vzorky byly váženy v šestihodinových intervalech. U všech vzorků docházelo k téměř lineárnímu poklesu hmotnosti. U panenského PET k poklesla hmotnost od 6,43 do 9,22 %, rPET od 6,09 do 11,83 %.

TGA analýzou bylo zjištěno, že rPET degradují při nižší teplotě než vzorky panenské. Maximální degradace (největší pokles hmotnosti) nastal u rPET v průměru při 518 °C a u panenských PET 529 °C. Po záhřevu rPET vzorků zbývá průměrně 13,07 % residuí u panenských vzorků 11,29 %. TGA se tak jeví jako účinnější metoda, i s ohledem na rychlost analýzy (29 minut) a jednoduchost provedení. Rozdíl v maximu derivace TGA a množství zbytkových residuí se jeví jako potenciální marker pro odlišení rPET od panenského PET.

KONTAKTNÍ ADRESA

mrlikm@vscht.cz

PODĚKOVÁNÍ

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A1_FPBT_2023_004.

LITERATURA

1. Plastics – the Facts 2015: An analysis of European plastics production, demand and waste data. PlasticsEurope, association of plastic manufacturers: Brussels, Belgium, 2015. https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2015/.
2. Plastics – the Facts 2023: An analysis of European plastics production, demand and waste data. PlasticsEurope, association of plastic manufacturers: Brussels, Belgium, 2023. https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2023/.
3. Dobiáš, J.; Votavová, L.; Vápenka, L., *Balení potravin*. 1 ed.; VŠCHT: Praha, 2019; p 312.
4. Směrnice Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/904 ze dne 5. června 2019 o omezení dopadu některých plastových výrobků na životní prostředí.
5. Alvarado Chacon, F.; Brouwer, M. T.; Thoden van Velzen, E. U., Effect of recycled content and rPET quality on the properties of PET bottles, part I: Optical and mechanical properties. *Packaging Technology and Science* **2020,** *33* (9), 347-357.
6. Nait-Ali, L. K.; Colin, X.; Bergeret, A., Kinetic analysis and modelling of PET macromolecular changes during its mechanical recycling by extrusion. *Polymer Degradation and Stability* **2011,** *96* (2), 236-246.

P14

Review of types of honey and their quality in Vietnam

Přehled druhů medu a jejich kvalita ve Vietnamu

Nhu T. Q. Nguyen, Vojtěch Kružík, Helena Čížková

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Med je přírodní produkt vytvářený včelami především z nektaru rostlin a ve Vietnamu je velmi oblíbený. Složení a fyzikálně-chemické vlastnosti různých druhů medu se liší především podle jeho botanického a geografického původu. Kvalitu medu ovlivňují i další faktory, jako jsou klimatické podmínky stanoviště, způsob zpracování a skladování. Vietnamský med má díky příznivým podnebním podmínkám vysokou rozmanitost. Pro ověření a kontrolu jeho kvality není v současné době dostatek vědeckých publikací. Tato práce se zaměřuje na nejčastěji dostupné druhové medy produkované ve Vietnamu a možnosti hodnocení jejich kvality.

Klíčová slova: *Vietnamský med, jednodruhový, fyzikálně-chemická analýza, cukry*

SUMMARY

Honey is a natural sweet fluid produced by honeybees from the nectar of plants that has been popularly used in Vietnam. The composition and physicochemical properties of honey varied between types of honey according to their botanical and geographical origins. In addition, environmental conditions, processing, and storage conditions also have an impact on the quality of honey. Thanks to the favourable climate conditions, Vietnamese honey has a high level of diversity and abundance. However, the beekeeping industry in Vietnam lacks of scientific data for authentification and quality control of honey. This review focusses on the types of honey available and their quality in Vietnam.

Keywords: *Vietnamese honey, monofloral, physicochemical analysis, sugars*

INTRODUCTION

Vietnam is located on the eastern Indochinese Peninsula along the latitude of 8°30‘ and 23° N. The country covers an area of approximately 331,212 km^2 and is comprised of eight different economic regions, namely the Northwest, Northeast, Red River Delta, North Central Coast, South Central Coast, Central Highlands, Southeast, and Mekong River Delta. Dramatic differences in topographic and climatic conditions are the main characteristics that create a high

level of biodiversity, prosperity, and abundance attributed to many types of monofloral and multifloral honey in Vietnam.

There are six honey bees (Apis laboriosa, Apis dorsata, Apis mellifera, Apis cerana, Apis andreniformis, Apis florea), eight stingless bees (Trigona laeviceps, Trigona ventralis, Trigona pagdeni, Trigona gressitti, Trigona fuscobalteata, Trigona carpenteri, Trigona scintillans, Trigona iridipennis), and two bumble bees (Bombus haemorrhoidalis, Bombus breviceps) present in Vietnam (Thai & Van Toan, 2018). Vietnam is the second largest country in Asia and ranked among the top twenty global honey exporters in 2022 (Faostat, 2024).

THE MAIN HONEY TYPES IN VIETNAM

Bees collect nectar from blooming plants and convert it to honey. The main floral sources in Vietnam blooming throughout the year allow the development of Vietnamese apiculture. Table 1 summarizes the main floral sources in Vietnam.

Table 1: The main nectar sources for honey bees in Vietnam (Thai & Van Toan, 2018)

Plant	Scientific name	Harvest season	Distribution
Mint	*Elsholtzia cypriani* Pavol	10 – 12	Ha Giang
Red gum	*Eucalyptus amaldulensis* D.	4	North, Central
Pomelo	*Citrus grandis* Oshek.	2 – 3	North, Central, South
Coffee	*Coffea arabica* L.	11 – 3	North, Central, South
	Coffea excelsa Achev.	2 – 3	Central, South
	Coffea robusta Lindens.	11 – 2	North, Central, South
Rubber*	*Hevea brasiliensis* Muell.	2 – 4	North, Central, South
Rambutan	*Nephelium lappaceum* L.	3 – 5	South
Bidens	*Bidens pilosa* L.	Year–round	North, Central
Coconut	*Cocos nucifera* L.	Year–round	North, Central, South
Longan	*Euphoria longan* Steud.	3 – 4	North, Central
Cajuput	*Melaleuca leucadendron*	1 – 4, 6 – 8	South
Lychee	*Litchi chinensis* Sonn.	3 – 4	North, Central

*Secreted honeydew

QUALITY OF HONEY IN VIETNAM: BASIC PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS

Traditional beekeeping has been practised for a long time by farmers in Vietnam. However, export standards pose challenges in honey production, processing, and quality management. According to the EU Honey Directive, certain honey criteria must be determined such as sum of glucose and fructose (≥ 60 g/100g), sucrose (≤ 5 g/100g), diastase number (> 8 DN), and HMF (≤ 40 mg/kg, ≤ 80 mg/kg for tropical honey). Moreover, monofloral honey can become the main target of adulteration by mixing with multifloral honey, inferior honey, and other substances. Based on data from WorldsTopExports (2024), the ranking of Vietnam decreased from 6th (2013) to 12th (2018) in the global honey export rankings. Recently, due to many efforts of government and nongovernment organisations, Vietnamese beekeepers have improved their knowledge on how to produce high-quality bee products for export.

The previous results of Pham et al. (2022) showed that the moisture content in longan, lychee, mint, coconut, rubber, mangrove, acacia and manuka honey ranged from 10.8 to 16.6% and was lower than the maximum acceptable limit (20%) according to the International Quality Regulations. However, cajuput, coffee, and rambutan honey did not pass this criterion (Pham, Nguyen et al., 2022). Compared to other honey from countries with similar climate conditions as Vietnam, the moisture content was in the range of 17.0 – 20.0% for Thailand honey (Wetwitayaklung et al., 2018), 17.0 – 19.1% for Malaysian honey (Moniruzzaman et al., 2013) and 21.1 – 25.4% for Indonesian honey (Hadju et al., 2021). Different honey moisture content was influenced by various factors such as the origin of the honey, the harvest time, the environmental conditions, and the beekeeper's manipulation (Pham, Nguyen et al., 2022).

HMF is an important parameter for evaluating the freshness and/or overheating of honey (Nguyen et al., 2023). HMF accumulates gradually during the pasteurisation process and storage, and its formation is accelerated by heating or ageing (Bogdanov, 2007). According to the Codex Alimentarius Standard (2001), the maximum HMF content was set at 40 mg/kg (Codex alimenatarius commission, 2001) except for honey originating from tropical countries (maximum HMF content of 80 mg/kg). HMF values of Vietnamese honey were significantly different between the tested groups. For example, HMF values in the range of 1.1 – 33.4 and 0.1 – 48.2 mg/kg were reported for longan and coffee honey, respectively (Pham, Le, Nguyen, Tran, & Tran, 2022; Pham, Nguyen, et al., 2022; Trinh et al., 2022).

The free acidity values of Vietnamese honey were generally not greater than 50 meq/kg, which is the maximum limit according to the EU Council directives (2002) and the international regulations (Codex alimenatarius commission, 2001). Trinh et al. (2022) reported the free acidity of Vietnamese longan and coffee honey ranging from 15 to 30 meq/kg (Trinh et al., 2022).

QUALITY OF HONEY IN VIETNAM: CARBOHYDRATES AND ANTIOXIDANTS

Honey contains simple carbohydrates (glucose and fructose) and oligosaccharides (disaccharides, trisaccharides, and tetrasaccharides) that can be useful to authenticate the origin of honey (Isla et al., 2011; Pospiech et al., 2021). Glucose and fructose are predominant carbohydrates that represent more than 65% of total soluble solids, while 25% made up of the remaining sugars include the sucrose, turanose, trehalose and melibiose disaccharides (Da Costa Leite et al., 2000). According to European legislation and Codex standards requirements, blossom honey should contain at least 60% sum fructose and glucose (Codex alimenatarius commission, 2001). Some Vietnamese honey samples, including coffee, acacia and mangrove honey, did not meet this standard (Table 2). These data were comparable to honey from Guinean (59 – 71%) (Azonwade et al., 2018), Iran (68.2 – 78.5%) (Mehryar et al., 2013) and Pakistan (61.7 – 72.4%) (Fahim et al., 2014). The sugar concentrations of honey varied depending on the regional conditions, the time of collection and the floral sources.

Table 2: The physicochemical parameters of Vietnamese honey

Honey	Water content (%)	Free acidity (meq/kg)	HMF (mg/kg)	Total sugars (g/100g)	Glucose +fructose (g/100g)	References
Longan	10.8	12.8	28.4	88.6	-	(Pham, Nguyen, et al., 2022)
	-	15.8	1.1	86.9	74.1	(Trinh et al., 2022)
	-	31.8	33.4	88.5	82.2	(Pham, Le, et al., 2022)
Coffee	22.4	35.9	48.2	60.6	-	(Pham, Nguyen, et al., 2022)
	-	26.3	1.5	83.8	70.6	(Trinh et al., 2022)
Lychee	15.5	20.3	58.6	71.7	-	(Pham, Nguyen, et al., 2022)
Mint	14.2	14.5	30.5	84.	-	(Pham, Nguyen, et al., 2022)
Coconut	13.9	17.4	28.0	68.0	-	(Pham, Nguyen, et al., 2022)
Rubber	16.9	15.3	12.4	62.5	-	(Pham, Nguyen, et al., 2022)
Melaleuca	24.0	48.2	34.9	65.5	-	(Pham, Nguyen, et al., 2022)
Rambutan	23.7	42.3	49.5	70.9	-	(Pham, Nguyen, et al., 2022)
Mangrove	15.9	13.4	28.0	59.7	-	(Pham, Nguyen, et al., 2022)
Acacia	16.6	41.2	25.9	58.9	-	(Pham, Nguyen, et al., 2022)
Manuka	12.8	20.2	22.4	73.4	-	(Pham, Nguyen, et al., 2022)

Honey contains substantial antioxidant compounds, such as phenolic acids and flavonoids, which can protect cell components from the harmful action of free radicals (Ahmed et al., 2018). The total phenolic content ranged from 0.9 – 1.1 mgGAE/g for longan honey (Pham, Le, et al., 2022), from 0.5 – 0.9 mgGAE/g for coffee honey, 0.8 mgGAE/g for rambutan honey, 0.7 mgGAE/g for melaleuca honey, 0.6 mgGAE/g for acacia honey and 0.3 mgGAE/g for lychee honey (Pham, Nguyen, et al., 2022). Polyphenol compositions were tested for logan, coffee, lychee, mint, coconut, rubber, melaleuca, rambutan, mangrove, acacia, and manuka honey. Logan honey contains a high amount of gallic acid (12.5 mg/100g) while acacia contains a high content of catechin (104.4 mg/100g), chlorogenic acid (104.7 mg/100g), epicatechin gallate (18.9 mg/100g) and salicylic acid (129.25 mg/100g). Salicylic acid was also detected in rambutan honey (131.2 mg/100g) and coffee honey (228.1 mg/100g). Caffeic acid contributed predominantly to the composition of polyphenols of coffee honey (Pham, Nguyen, et al., 2022).

CONCLUSIONS

The physicochemical parameters of Vietnamese honey were mostly in accordance with EU Council directives and international regulations.

It is necessary to consider that the humid and warm tropical climate can negatively affect the water content (see findings above 20%) and increase the concentration of HMF. However, some samples did not pass, perhaps due to poor storage conditions, overheating, or mixing.

Although some recent external tests (FDA Organization, 2022) proved increased quality of exported Vietnamese honeys, future studies should focus on quality and authenticity testing.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported from the grant of Specific university research – grant No A1_FPBT_2023_004.

LITERATURE

1. Ahmed, S., Sulaiman, S. A., Baig, A. A., Ibrahim, M., Liaqat, S., Fatima, S., … Othman, N. H. (2018). Honey as a Potential Natural Antioxidant Medicine: An Insight into Its Molecular Mechanisms of Action. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2018*, 1–19. https://doi.org/10.1155/2018/8367846.
2. Azonwade, F. E., Paraïso, A., Agbangnan Dossa, C. P., Dougnon, V. T., N'tcha, C., Mousse, W., & Baba-Moussa, L. (2018). Physicochemical Characteristics and Microbiological Quality of Honey Produced in Benin. *Journal of Food Quality*, *2018*, 1–13. https://doi.org/10.1155/2018/1896057.
3. Bogdanov, S. (2007). Authenticity of honey and other bee products. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies*, 1–8.
4. Codex alimenatarius commission. (2001). Report of the seventh session of the codex committee on sugars. *Food and Culture Organization of the United Nations*, *ALINORM*(February 2000), 2–7.
5. Da Costa Leite, J., Trugo, L., Costa, L.S., Quinteiro, L.M., Barth, O., Dutra, V. M. ., & De Maria, C.A. (2000). Determination of oligosaccharides in Brazilian honeys of different botanical origin. *Food Chemistry*, *70*(1), 93–98. https://doi.org/10.1016/S0956-7135(99)00115-2.
6. Fahim, H., Dasti, J. I., Ali, I., Ahmed, S. & Nadeem, M. (2014). Physico-chemical analysis and antimicrobial potential of A pis dorsata, A pis mellifera and Z iziphus jujube honey samples from Pakistan. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *4*(8), 633–641. https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2014-0095.
7. FDA Organization (2022): FY21/22 Sample Collection and Analysis of Imported Honey for Economically Motivated Adulteration. Available at https://www.fda.gov/food/economically-motivated-adulteration-food-fraud/fy2122-sample-collection-and-analysis-imported-honey-economically-motivated-adulteration.
8. FAO Organization (2024): Crops and livestock products. Available at https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL.
9. Hadju, V., Dassir, M., Putranto, A., & Sadapotto, A. (2021). Chemical composition of Moringa oleifera and honey from three different areas of South Sulawesi, Indonesia. *Gaceta Sanitaria*, *35*, S396–S399. https://doi.org/10.1016/j.gaceta.2021.10.060.
10. Isla, M. I., Craig, A., Ordoez, R., Zampini, C., Sayago, J., Bedascarrasbure, E., … Maldonado, L. (2011). Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *LWT - Food Science and Technology*, *44*(9), 1922–1930. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.04.003.
11. Mehryar, L., Esmaiili, M., & Hassanzadeh, A. (2013). Evaluation of some physicochemical and rheological properties of Iranian honey and the effect of temperature on its viscosity. *J. Agric. & Environ. Sci.*, *13*(6), 807–819. https://doi.org/10.5829/idosi.aejaes.2013.13.06.1971.
12. Moniruzzaman, M., Sulaiman, S. A., Khalil, M. I. & Gan, S. H. (2013). Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: A comparison with manuka honey. *Chemistry Central Journal*, *7*(1), 1–12. https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-138.
13. Nguyen, T. Q. N., Hanková, M., Kružík, V., Grégrová, A., Škorpilová, T., Štarha, P., Čížková, H. (2023). Determination of volatile compound profiles and physico-chemical analysis of linden and acacia Czech honey. *Journal of Apicultural Research*, *62*(2), 374–382. https://doi.org/10.1080/00218839.2022.2146346.
14. Pham, T. N., Le, H. T., Nguyen, Q. V., Tran, Q. T. & Tran, M. P. (2022). Physicochemical Properties, Phenolic Contents and Antioxidant Activity of Vietnamese Honey. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, *10*(4), 427–438. https://doi.org/10.22101/JRIFST.2021.295084.1258.
15. Pham, T. N., Nguyen, T. V., Le, D. T., Diep, L. M. N., Nguyen, K. N., To, T. H. N., Nguyen, Q. V. (2022). Phenolic Profiles, Antioxidant, Antibacterial Activities and Nutritional Value of Vietnamese Honey from Different Botanical and Geographical Sources. *AgriEngineering*, *4*(4), 1116–1138. https://doi.org/10.3390/agriengineering4040069.

16. Pospiech, M., Javůrková, Z., Hrabec, P., Čížková, H., Titěra, D., Štarha, P., Tremlová, B. (2021). Physico-Chemical and Melissopalynological Characterization of Czech Honey. *Applied Sciences*, *11*(11), 4989. https://doi.org/10.3390/app11114989.
17. Thai, P. H. & Van Toan, T. (2018). Beekeeping in Vietnam. In *Asian Beekeeping in the 21st Century* (pp. 247–267). Singapore: Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-8222-1_11.
18. Trinh, N. T. N., Tuan, N. N., Thang, T. D., Kuo, P.-C. C., Thanh, N. B., Tam, L. N., … Thuy, N. T. T. (2022). Chemical Composition Analysis and Antioxidant Activity of Coffea robusta Monofloral Honeys from Vietnam. *Foods*, *11*(3), 388. https://doi.org/10.3390/foods11030388.
19. Wetwitayaklung, P., Narakornwit, W., Sratthaphut, L., & Wangwattana, B. (2018). Physicochemical analysis and determination of diand tri-saccharide content in Longan, Litchi and Siam weed honeys of Thailand. *Journal of Apicultural Research*, *57*(1), 175–185. https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1411183.
20. WorldsTopExports (2024): Products – Food. Available at https://www.worldstopexports.com/category/products/food/fresh-food/.

P15

Využití metody FTIR pro hodnocení kvality vybraných produktů z rybízu

Use of FTIR method for quality assessment of selected currant products

Tereza Podskalská[1,2], Petra Svobodová[1], Veronika Smutná[2], Helena Čížková[1]

[1] Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3, 166 28 Praha 6 – Dejvice
[2] Státní zemědělská a potravinářská inspekce – Inspektorát v Praze, Za Opravnou 300/6, 150 00 Praha 5 – Motol

SOUHRN

V potravinářském průmyslu je infračervená spektroskopie vyhledávanou metodou pro jednoduchost analýzy, snadnou obsluhu, rychlou identifikaci sloučenin a zejména pro aplikaci on-line sledování procesu výroby potravin přímo v provozech. Tato metoda se používá také pro průkaz falšování potravin (např. ovocných šťáv) přídavkem vody, cukrů, kyselin nebo jiného (levnějšího) druhu ovoce.

Cíli práce bylo – ověření a přizpůsobení metody FTIR pro hodnocení kvality produktů z rybízu, analýza vybraných rybízových produktů, statistické zpracování pro ověření vlivu přirozené variability a technologií zpracování na chemické složení produktů z rybízu, a nakonec zhodnocení možnosti využití pro odhalení falšování vybraných produktů z rybízu naředěním, přislazením, okyselením či přídavkem jablečné/červenorybízové šťávy.

Klíčová slova: *infračervená spektroskopie, FTIR, spektrum, kvalitativní a kvantitativní analýza, rybízové šťávy, falšování ovocných produktů*

SUMMARY

In the food industry, infrared spectroscopy is a sought-after method for its simplicity of analysis, ease of use, rapid identification of compounds and especially for its use in on-line monitoring of the food production process on site. This method is also used in the prediction of adulteration of foods (e.g. fruit juices) by the addition of water, sugars, acids or other (cheaper) fruits.

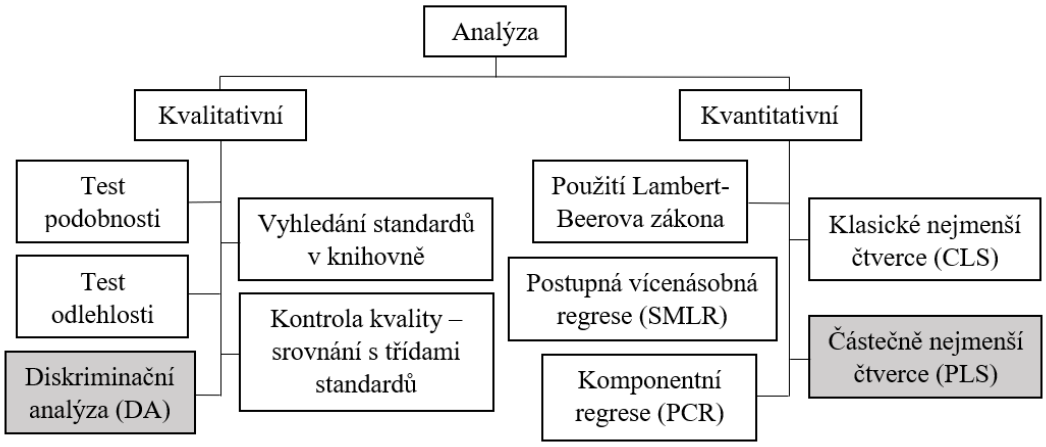
The aims of the work were – validation and adaptation of the FTIR method for quality assessment of currant products, analysis of selected currant products, statistical processing to verify the influence of natural variability and processing technologies on the chemical composition of currant products, and finally evaluation of the possibility of use for detection of adulteration of selected currant products by dilution, sweetening, acidification or addition of apple/redcurrant juice.

Keywords: *infrared spectroscopy, FTIR, spectrum, qualitative and quantitative analysis, currant juice, adulteration of fruit products*

ÚVOD

Poslední dobou se v provozní i laboratorní kontrole rozvíjejí rychlé analytické metody na principu optické spektroskopie pracující v oblasti viditelného nebo blízkého infračerveného záření (800-2500 nm). Pomocí této metody lze nedestruktivně určovat například pevnost dužniny, sušinu, obsah pevných rozpustných látek, kyselost a další vlastnosti u mnoha druhů ovoce a zeleniny a výrobků z nich (např. u jablek, rajčat, švestek, melounu či avokáda). Tyto techniky jsou užitečné pro potravinářský průmysl, jelikož je lze použít přímo v provozech při on-line sledování procesu výroby a mimo jiné i pro šlechtitele k určování genotypu ovoce během šlechtění[1,2].

Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) získala uznání jako metoda pro rychlou identifikaci sloučenin a díky tomu, že poskytuje vysoce reprodukovatelná spektra. FTIR spektroskopie se využívá v analýze potravin jak ke kvalitativnímu, tak i ke kvantitativnímu hodnocení (Obr. 1). Použití FTIR spektroskopie je také podmíněno současným využitím chemometrických metod, výkonné výpočetní techniky, která umožňuje statisticky vyhodnotit snímaná spektra v korelaci s analyticko-chemickými a fyzikálními vlastnostmi měřených vzorků[3-5].



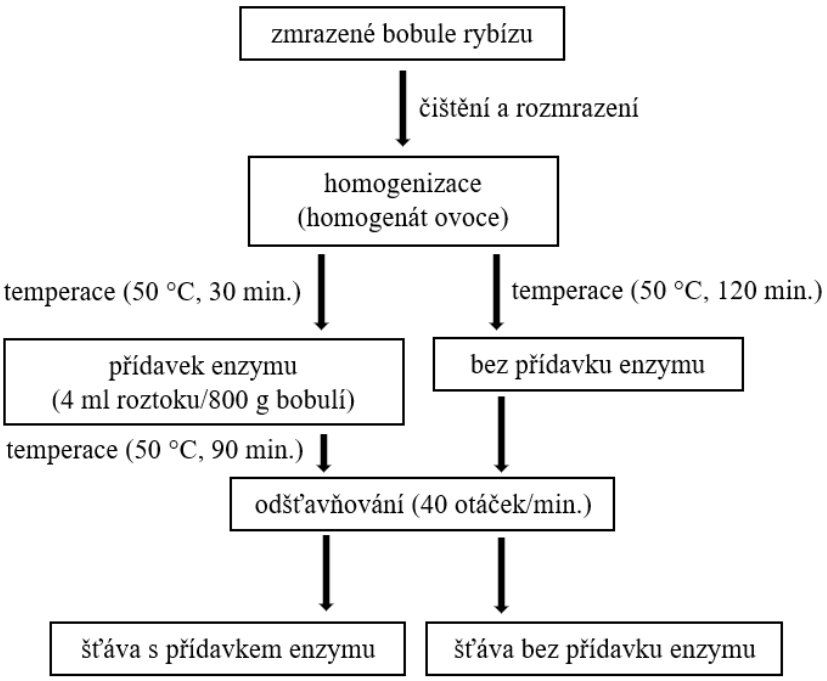
Obrázek 1: Algoritmy určené ke kvantitativní a kvalitativní analýze na FTIR[5-7]

Potravinářské vzorky mohou vytvářet jedinečné a charakteristické spektrum absorbance neboli „otisk prstu“ na základě vibračních režimů sloučenin, které obsahuje. Infračervené spektrum dělíme na dvě oblasti – oblast skupinových vibrací (4000-1000 cm^{-1}), která je využívána k identifikaci funkčních skupin v molekule a oblast otisku prstů („fingerpriting“, 1000-400 cm^{-1}), zde se nachází převážně deformační vibrace, které jsou ovlivněné strukturou molekuly a umožňují identifikaci konkrétní organické látky. To umožní stanovení komplexního složení šťávy na základě analýzy FTIR ve spojení se statistickou klasifikací. Vícerozměrný statistický software shromažďuje informace z více než stovek spekter a dále provádí analýzu redukce dat, známou jako skóre hlavních komponent (PCS). To umožňuje konstrukci statistických (kalibračních) modelů schopných předpovídat identitu a obsah složek budoucích neznámých vzorků. Vedle možnosti sledovat celé chemické složení (majoritní a vybrané minoritní složky) vzorku patří mezi další výhody FTIR spektroskopie rychlá a jednoduchá analýza, kvalitativní a kvantitativní výsledky, eliminace používání organických rozpouštědel,

nedestrukce vzorku, a poměrně jednoduchá instrumentace. Technika FTIR má i své významné zastoupení při hodnocení kvality ovoce a produktů z nich, kdy můžeme provést analýzu na obsah vody, cukrů, kyselin, zralosti, ale též odhalit falšování těchto produktů např. přídavkem jiného ovocného druhu, zředění vodou, okyselení či přídavek sirupu [2-5,7,8].

MATERIÁL A METODIKA

Celkem bylo metodou FTIR (ATR, NIR) analyzováno 72 vzorků (28 komerčních výrobků – koncentráty, nektary, džemy, dřeně, pyré a laboratorně připravené homogenáty ovoce a 44 rybízových šťáv (přesněji 22 vzorků z černého rybízu, 16 vzorků z červeného rybízu a 6 vzorků z bílého rybízu, které byly dále rozděleny na 29 šťáv s přídavkem enzymu a 15 šťáv bez přídavku enzymu (Obr. 2). Vzorky bobulí byly získány samosběrem v roce 2020 a 2021 od českých pěstitelů z celé ČR. Pro laboratorní přípravu rybízových šťáv byl použit přídavek roztoku enzymového preparátu (pektinasy) Rohaptec MC (AB Enzymes GmbH, Německo) a odšťavňovač Sana Supreme 727 (Mipam bio s.r.o., Česká republika).



Obrázek 2: Schéma laboratorní přípravy produktů z rybízu

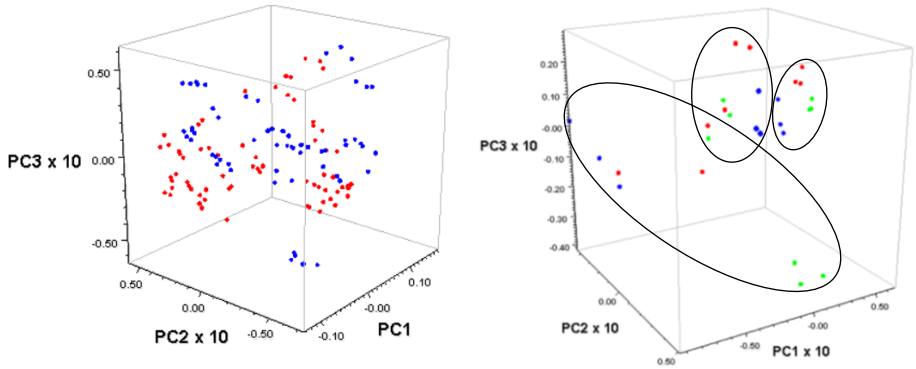
Analýza proběhla prostřednictvím spektroskopu Nicolet iS50 FTIR (Thermo Scientific) s moduly NIR (přesněji kompresní kyvetou a transflektanční kyvetou) a ATR krystalem, pomocí softwaru OMNIC (celé spektrum (4000-400 cm^{-1}), 64 skenů, 3x opakování vzorku). Kvalitativní a kvantitativní analýza byla provedena softwarem TQ Analyst využitím diskriminační analýzy (DA), resp. skóre hlavních komponent (PCS), a metody částečně nejmenších čtverců (PLS).

Zároveň byly u všech vzorků změřeny další vybrané klasické markery – refraktometrická sušina (Rf, ČSN EN 12143), glukóza (Glc, ČSN EN 12630), titrační kyselost (TK, ČSN EN 12147), formolové číslo (FČ, ČSN EN 1133), vitamin C (HPLC/DAD[9]) a citronová kyselina (CA, HPLC/DAD[10,11]).

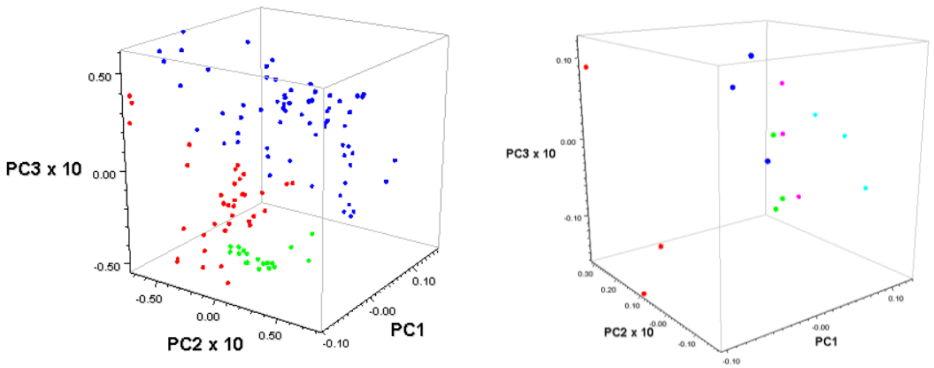
Nakonec na vybrané 100% černorybízové šťávě byla provedena adulterace následovně – přislazení (přídavek glukózo-fruktózového sirupu/sacharózy), okyselení (přídavek kyseliny citronové/askorbové), zředění vodou a částečná náhrada rybízu levnějším/dostupnějším ovocem (jablečnou/červenorybízovou šťávou). Přídavek byl pro všechny komponenty 5, 10, 20 a 30 %, kromě vody, kde byly přídavky následující: 5, 10, 25, 50, 75 a 90 %.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Pro statistické vyhodnocení byla použita – diskriminační analýza (DA) a metoda částečně nejmenších čtverců (PLS). U diskriminační analýzy byly zpracovány záznamy získané z ATR krystalu. Na prvním 3D grafu skóre hlavních komponent (PCS, obr. 3) z diskriminační analýzy (DA) můžeme vidět přirozenou variabilitu 44 rybízových šťáv, kdy vzorky z let sběru 2020 a 2021 nelze od sebe jednoznačně rozdělit. Na druhém 3D grafu PCS (obr. 4) z DA je znázorněno rozdělení 9 vzorků černorybízových produktů (homogenát ovoce, šťáva s/bez přídavku enzymu). V rámci 3 vzorků bobulí černého rybízu jsou od sebe oddělitelné (viz elipsy), ale ne v rámci skupiny (homogenát ovoce × šťáva s přídavkem enzymu × šťáva bez přídavku enzymu). Metoda DA byla použita i pro rozdělení v rámci druhu rybízu (Obr. 5) a pro predikci falšování rybízových šťáv (ukázka – přídavky CA (Obr. 6)).



Obrázek 3 a 4: 3D grafy PCS DA (šťávy 2020/2021 a 9 vybraných produktů z černého rybízu (3x homogenát ovoce, 3x šťáva s přídavkem enzymu, 3x šťáva bez přídavku enzymu)



Obrázek 5 a 6: 3D grafy PCS DA (šťáva z černého, červeného a bílého rybízu a přídavky CA (5, 10, 20 a 30 % k 100% šťávě z černého rybízu)

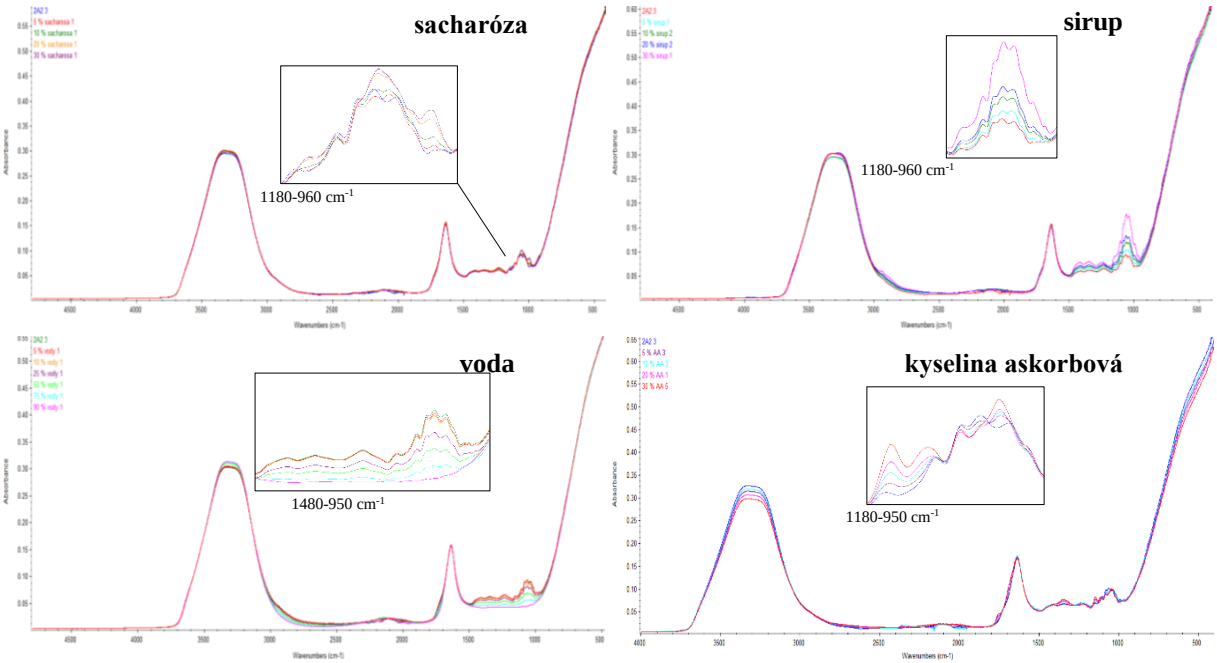
Statisticky bylo porovnáno i všech 72 vzorků prostřednictvím NIR záznamů a PLS metody (pomocí korelace, press a cross validace) ve srovnání s vybranými markery (titrační

kyselost, refrakce, formolové číslo, vitamin C, glukóza a citronová kyselina). Nejlepší korelační koeficient byl dosažen u refrakce a titrační kyselosti (0,9891-0,9967 a 0,9494-0,9581), u těchto markerů byla dosažena i nízká hodnota chyby kalibrace (RMSEC) a chyby predikce (RMSEP) uvedených v tabulce 1.

Tabulka 1: Hodnoty kalibračních modelů pro vybrané markery

Markery	Faktory	Korelační koeficient	RMSEC	RMSEP
TK	13	0,9494-0,9581	3,33	3,91
Rf	12	0,9891-0,9967	1,32	0,67
FČ	14	0,8330-0,8678	4,90	5,81
vitamin C	14	0,9001-0,9129	3,02E+02	5,58E+02
Glc	12	0,9326-0,9625	8,41	5,27
CA	13	0,8960-0,9687	4,80	2,89

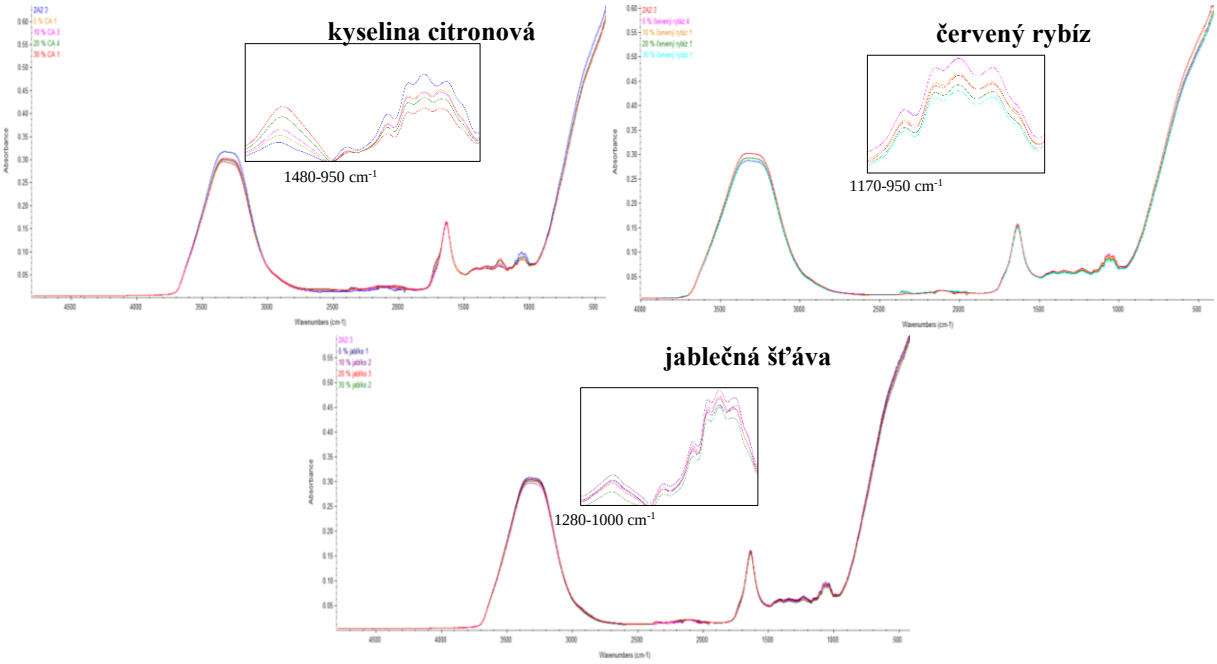
Metodou FTIR byla změřena i výše zmíněná adulterace. Na spektrech z modulu ATR (obr. 7-9) bylo zachyceno úmyslné falšování 100% černorybízové šťávy ředěním vodou a přídavkem cukrů (přesněji 20% roztoku sacharózy a glukózo-fruktozového sirupu), které dle procentuálního přídavku postupně mění charakter křivky. Patrná změna je především v oblasti vibrací C-O skupin cukrů (1200-900 cm^{-1}). Zároveň je vidět změna při ~3335 cm^{-1}, což je oblast valenčních vibrací vazeb O-H. Na obrázcích 10-13 jsou zobrazena spektra vzorků při falšování přídavkem kyseliny askorbové (20% roztok), kyseliny citronové (20% roztok) a přídavků 100% jablečné a 100% červenorybízové šťávy. U přídavků kyseliny askorbové je patrný mírný nárůst absorbance ve vlnočtech typických pro valenční vibraci C=C vazby (~1675 cm^{-1}), deformačních vibrací C-H vazeb (~1320-1350 cm^{-1}) a deformačních vibrací C-O-H a C-OC (~1020-1080 cm^{-1}).



Obrázky 7-10: Přídavky sacharózy, sirupu, vody a kyseliny askorbové (AA)

V případě vzorků s přídavky kyseliny citronové lze pozorovat ve spektru mírné zvýšení intenzity signálů typických pro valenční vibrace O-H skupin (3200-3500 cm^{-1}), valenční

vibrace C=O skupin (~1720, 1630 cm^{-1}) a valenčních vibrací C-OH (~1080 cm^{-1}). Pro přídavky šťáv je zjevný mírný nárůst v oblasti valenčních vibrací C-OH (~1080 cm^{-1}).



Obrázky 11-13: Přídavky kyseliny citronové (CA), 100% červenorybízové šťávy a 100% jablečné šťávy

ZÁVĚR

Studie byla zaměřena na posouzení metody FTIR (ATR, NIR) pro hodnocení kvality produktů z rybízu, kdy se tato metoda jeví jako vhodný doplněk pro klasické fyzikálně-chemické metody, protože je rychlá a nedestruktivní.

Ročník sběru bobulí naměřená spektra neovlivnil. Naopak bylo potvrzeno, že metoda od sebe dokáže odlišit druhy rybízu a částečně také způsob zpracování.

Tato metoda nám může být nápomocná i při odlišení komerčních výrobků od sebe a při detekci některých hrubých způsobů falšování rybízových produktů. Prokazatelně odhalitelné přídavky byly následující: od 5 % – kyselina askorbová (AA, 20% roztok), kyselina citronová (CA, 20% roztok) a sirup; od 10 % – sacharóza (20% roztok) a 100% červenorybízová šťáva; od 20 % – voda a 100% jablečná šťáva.

LITERATURA

1. Giusti M. M., Atnip A., Sweeney C., Rodriguez-Saona L. E. 2011. Rapid Authentication of Fruit Juices by Infrared Spectroscopic Techniques. *Progress in Authentication of Food and Wine*, 275–299.
2. Bureau S., Ruiz D., Reich M., Gouble B., Bertrand D., Audergon J.-M., Renard C. M. G. C. 2009. Rapid and non-destructive analysis of apricot fruit quality using FT-near-infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 113(4), 1323–1328.
3. Laaksonen O., Mäkilä L., Tahvonen R., Kallio H., & Yang B. 2013. Sensory quality and compositional characteristics of blackcurrant juices produced by different processes. *Food chemistry*, 138(4), 2421–2429.
4. Camps C., Robic R., Bruneau M., Laurens F. 2010. Rapid determination of soluble solids content and acidity of Black currant (*Ribes nigrum* L.) juice by mid-infrared spectroscopy performed in series. *LWT – Food Science and Technology*, 43(7), 1164–1167.

5. Dvořák L., Šustová K., Mlček J. 2016. Blízká infračervená spektroskopie jako pomocník při kontrole kvality potravin. *Chemické listy*, 110(12), 868–873.
6. Dvořák L. 2016. Využití NIR spektroskopie ke kontrole kvality potravinářských výrobků. *Disertační práce*, 212.
7. Nicolet CZ: TQ Analyst – spektroskopický software, stručný návod 2011. *Firemní literatura*, 113.
8. Koplík R. 2020. Infračervená a Ramanova spektroskopie – 1. část, *VŠCHT Praha*, dostupné na: https://web.vscht.cz/~koplikr/AMFA_IR_a_Ramanova_spektroskopie_%C4%8D%C3%A1st_1_2020.pdf.
9. Iwase H., Ono I. 1993. Determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in juices by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection using L-cysteine as precolumn reluctant, *Journal of Chromatography A*, 654 (2), 215–220.
10. Scherer R., Rybka A. C. P., Ballus C. A., Meinhart A. D., Filho J. T., Godoy H. T. 2012. Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices, *Food Chemistry*, 135 (1), 150–154.
11. Rajchl A., Čížková H., Ševčík R., Jodasová A., Voldřich M. 2013. Analytical data for plum paste as a tool for evaluation of plum paste authenticity, *Journal of Food and Nutrition Research*, 52 (1), 71–77.

PODĚKOVÁNÍ

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt A2_FPBT_2022_020.

KONTAKTNÍ ADRESA

Ing. Tereza Podskalská, Ústav konzervace potravin, FPBT, VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6 – Dejvice, email: podskalt@vscht.cz, tel: +420 606 192 411; Státní zemědělská a potravinářská inspekce – Inspektorát v Praze, Za Opravnou 300/6, 150 00 Praha 5 – Motol, email: tereza.podskalska@szpi.gov.cz, Tel: +420 257 199 586

P16

Vliv zpracování na kvalitativní parametry řepkových olejů z liniových odrůd řepky olejky

Effects of processing methods on the qualitative parameters of rapeseed oil from line varieties of rapeseed crop

Iveta Šístková[1], Martina Málková[1], Gabriela Krátká[1], Vojtěch Kružík[1], Aleš Rajchl[1], Jan Kyselka[2], Helena Čížková[1]

[1]Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice
[2]Ústav mléka, tuků a kosmetiky, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Ozimé druhy řepky olejky jsou v České republice nejvíce pěstovanou olejninou. Cílem tohoto příspěvku bylo porovnání kvalitativních parametrů (profil mastných kyselin, obsah fosfolipidů, karotenoidů a chlorofylů, měřeno jako feofytiny) pro 8 vybraných liniových odrůd semen řepky olejky a tří způsobů jejich zpracování (lisování za studena, lisování za tepla a extrahování). Vzorky olejů z jednotlivých liniových odrůd se mezi sebou lišily v procentuálním zastoupení mastných kyselin, což odpovídalo jejich charakteristice dle obsahu kyseliny olejové. U obsahu karotenoidů, chlorofylů (feofytinových barviv) a fosfolipidů byl významný rozdíl při způsobu získávání oleje (lisováním či extrakcí), vliv odrůdy nebyl statisticky významný.

Klíčová slova: *řepkový olej, mastné kyseliny, karotenoidy, feofytiny, fosfolipidy*

SUMMARY

Winter oilseed rape species are the most cultivated oilseed in the Czech Republic. The aim of this paper was to compare qualitative parameters (fatty acid profile, content of phospholipids, carotenoids and chlorophylls – measured as pheophytin) for 8 selected line varieties of oilseed rape and three methods of their processing (cold pressing, hot pressing and extraction). Oil samples from individual line varieties differed in the percentage of fatty acids, which corresponded to their characteristics according to the oleic acid content. There was a significant difference in the content of carotenoids, chlorophylls and phospholipids in the method of oil processing (by pressing or extraction), the effect of the variety was not statistically significant.

Keywords: *rapeseed oil, fatty acids, carotenoids, pheophytins, phospholipids*

ÚVOD

Řepka olejka (*Brassica napus*) je v České republice nejvýznamnější olejninou převážně pěstovanou v ozimé formě. Ozimé odrůdy mají vyšší výnos a obsah oleje a jsou odolnější vůči škůdcům oproti odrůdám jarním. Řepkové semeno obsahuje 35–40 % tuku, 20 % dusíkatých látek, 26 % sacharidů, 7–12 % vlákniny a 2–3 % minerálních látek[1]. Dále pak semeno řepky obsahuje značné množství antinutričních látek: fytin (2,5 %), tanin (1,5 %), glukosinoláty (0,9 %) a sinapin (1,5 %)[2]. Řepka olejka se využívá nejen v potravinářském průmyslu (jedlé oleje), ale i v krmivářství (šrot, pokrutiny, pícnina), v zemědělství (zelené hnojivo, medonosná rostlina), v chemickém průmyslu (oleochemie) či jako složka biopaliv. Pro potravinářské využití bylo v 70. letech 20. století přistoupeno ke šlechtění řepky olejky s cílem snížit obsah kyseliny erukové z 41–54 % na max. 2 % z celkového obsahu mastných kyselin (typ „0“), následně od 80. let 20. století bylo cílem snížit i obsah glukosinolátů (typ „00“).[3] v posledních letech jsou nově šlechtěny odrůdy s vysokým podílem kyseliny olejové (typ „HO“).

Výroba rafinovaného jedlého oleje ze semen probíhá většinou lisováním s následnou extrakcí technickým hexanem, poté následuje rafinace surového oleje, která v jednotlivých krocích (odslizení, neutralizace, bělení, deodorace) má za úkol odstranit přítomné nežádoucí látky (barevné, vonné i chuťové)[4]. Vzniká tak čirý olej bez výrazné chuti a vůně. Nově lze na trhu najít i oleje lisované za studena, jejichž lisování probíhá při teplotě do 50 °C a po následném přečištění (sedimentace, filtrace či centrifugace) jdou ke stáčení a prodeji. Tyto oleje si zachovávají vůni po surovině, mají lehce oříškovou chuť a zlatožlutou barvu a zachovávají si všechny obsahové látky (vitamíny, minerální látky, ale i antinutriční látky).

Cílem tohoto příspěvku je porovnání kvalitativních parametrů (profil mastných kyselin, obsah fosfolipidů, karotenoidů a feofytinových barviv – chlorofylu) pro 8 vybraných liniových odrůd semen řepky olejky a tří způsobů jejich zpracování (lisování za studena, lisování za tepla a extrahování).

MATERIÁL

Řepkové oleje lisované za studena (LzS), lisované za tepla (LzT) a extrahované (Extr) z 8 liniových odrůd semen řepky olejky (oblast pěstování Hradce nad Svitavou, sklizeň v roce 2022), která byla poskytnuta Ing. Petrem Zehnálkem z Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského (ÚKZÚZ). Analyzované řepkové oleje byly vyrobeny a dodány Ústavem mléka, tuků a kosmetiky, VŠCHT Praha. Výroba oleje lisovaného za studena probíhala při teplotě 47 °C, olej lisovaný za tepla byl lisován při 74 °C, extrahované oleje byl extrahovány n-hexanem. Analyzované vzorky a jejich charakteristika je uvedena v tabulce 1. Vzorky do doby analýzy byly skladovány při +4 °C a analyzovány 1 měsíc od dodání.

Tabulka 1: Seznam analyzovaných vzorků

Č.	Odrůda	Charakteristika	Obsah kys. olejové v semeni (%)*	Obsah oleje v sušině semene (%)*
1	RAW 1228-050	vysoký obsah kys. olejové	75,83	49,95
2	OP-BN-72	vysoký obsah kys. olejové	76,41	50,73
3	Ivanka (SG-C48916)	vysoký obsah kys. olejové	74,83	49,9
4	Keltor	střední obsah kys. olejové	64,78	48,76
5	Aurelia	nízký obsah kys. olejové	63,41	50,26
6	0EW0275	vysoký obsah oleje	neuvedeno	neuvedeno
7	Ocelot	nízký obsah oleje	64,82	47,38
8	DK Exlibris	střední obsah oleje	63,94	48,97

Pozn.: *data převzata z ÚKZÚZ, Ing. Petr Zehnálek – Výsledky zkoušek užitné hodnoty ze sklizně 2022 – Řepka ozimá („00“ a „HO“ sortiment), odrůdy zkoušené 2. a 3. rokem

METODY

Stanovení mastných kyselin

Příprava vzorků pro stanovení methylesterů MK probíhala následovně: k 0,5 g vzorku oleje bylo přidáno 10 ml methanolického roztoku KOH (0,5 mol/l) a reakční směs byla vařena po dobu 30 minut pod zpětným chladičem ve varných hnízdech. Po ochlazení baňky pod zpětným chladičem bylo přidáno 3–5 kapek 1% methanolického roztoku methyloranže a směs byla neutralizována koncentrovanou kyselinou sírovou; po neutralizaci byl přidán nadbytek H_2SO_4 (5 kapek) za vzniku sytě růžového zbarvení, reakční směs byla následně vařena pod zpětným chladičem dalších 30 minut. K ochlazené reakční směsi bylo přidáno 20 ml nasyceného roztoku chloridu sodného a směs byla kvantitativně převedena do dělící nálevky, ve které byly methylestery MK extrahovány v 10 ml n-hexanu. Oddělená vzrstva n-hexanu byla následně převedena do vialky.

Pro stanovení methylesterů mastných kyselin byla využita metoda GC-FID (chromatograf YL6100 GC, kolona SP-2560 100 m x 0,25 mm x 0,2 μm); nástřik: 1 μl; teplota 220 °C; split poměr 1:50; teplotní program: 130 °C, 3 °C/min do 250 °C, výdrž 30 min, nosný plyn N_2 (0,5 ml/min). Detekce plamenově-ionizačním detektorem probíhala při teplotě 280 °C; průtok vodíku: 30 ml/min; průtok vzduchu: 400 ml/min; make up plyn: dusík, průtok 25 ml/min. Průměrné výsledky ze dvou paralelních stanovení včetně směrodatné odchylky jsou uvedeny v procentech relativního zastoupení obsahu methylesterů MK. Použité standardy k identifikaci: Supelco 37 Component FAME Mix (Supelco), Linoleic Acid Methyl Ester Mix (Supelco), Linolenic Acid Methyl Ester Isomer Mix (Supelco).

Spektrofotometrické stanovení karotenoidů a feofytinových barviv

Příprava vzorků probíhal následujícím způsobem: 2,5–10 g přefiltrovaného a přesušeného oleje (přes bezvodý síran sodný; navážka se volí podle intenzity zbarvení oleje) se naváží do 50 ml odměrné baňky a doplní n-hexanem. Intenzita zbarvení se proměří

na spektrofotometru při teplotě 20 °C proti n-hexanu při vlnových délkách 450 nm pro karotenoidy a při 670 nm pro chlorofyl (měřeno jako feofytiny). Pomocí spektrofotometru byly stanoveny absorbance vzorků při požadovaných vlnových délkách, z nichž byly vypočteny koncentrace barviv v jednotlivých vzorcích podle rovnic:

$$C_{kar.} = \frac{A(450nm)\cdot V}{0{,}2505\cdot d\cdot m}\ [mg/kg] \text{ a } C_{feof.} = \frac{A(670nm)\cdot V}{0{,}053\cdot d\cdot m}\ [mg/kg],$$

kde A je absorbance vzorku, v objem roztoku [ml], *d* tloušťka kyvety [cm] a *m* navážka vzorku [g]. Bylo provedeno paralelní stanovení, uveden je průměr a směrodatná odchylka.

Spektrofotometrické stanovení fosforu a fosfolipidů

Příprava vzorků probíhal následujícím způsobem: vzorek se zpopelní pod vrstvou oxidu hořečnatého a následně rozpustí v kyselině sírové. Vzniklý fosforečnan hořečnatý se působením molybdenanu sodného převede na fosfomolybdenovou modř a intenzita modrého zbarvení se proměří spektrofotometricky při 830 nm. Dle kalibrační řady je pak vypočítán obsah fosforu ve vzorku oleje. Obsah fosfolipidů je následně vypočítán podle vzorce:

$$cPL = \frac{cp.V.25{,}44}{1000\cdot m}\ [hm.\%],$$

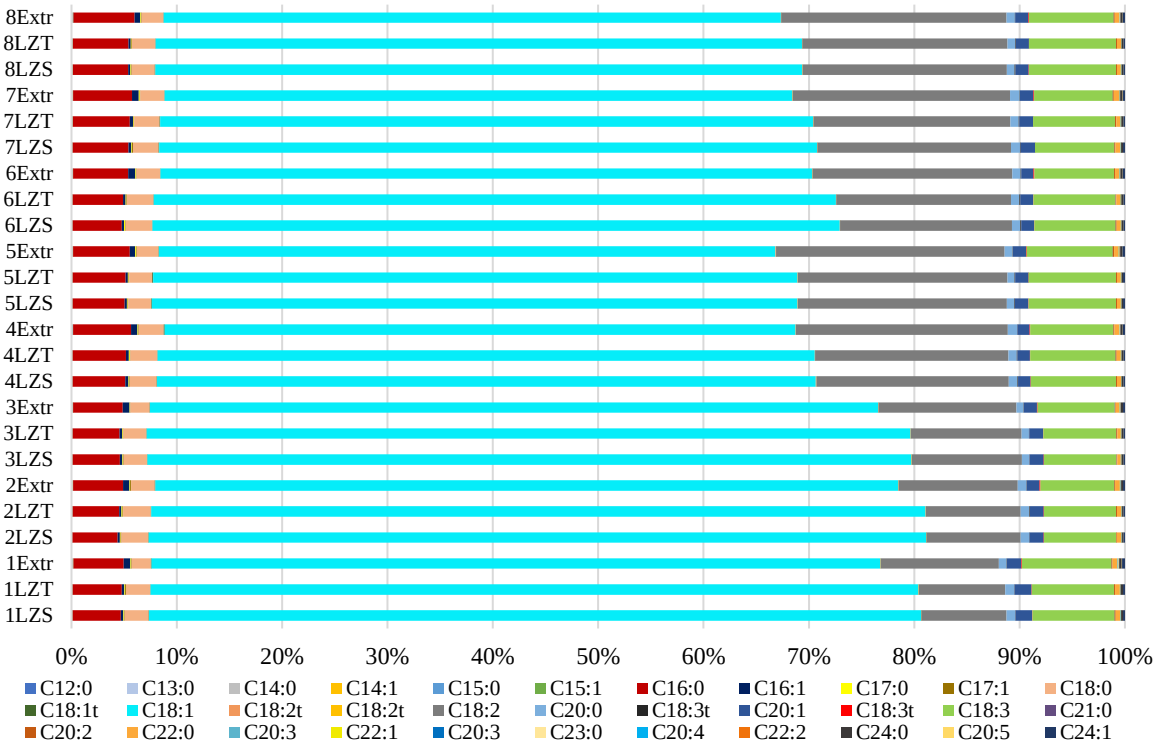
kde c_p je koncentrace fosforu v měřeném roztoku [μg/mL], v je objem celkového ředění [mL] a *m* je navážka [g], 22,44 je přepočítávací faktor na stearoyloleoylfosfatidylcholin. Bylo provedeno paralelní stanovení, uveden je průměr a směrodatná odchylka.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Celkem bylo analyzováno 24 vzorků (8 liniových odrůd krát 3 způsoby zpracování) řepkových olejů na profil mastných kyselin, obsah karotenoidů a chlorofylu (feofytinových barviv) a obsah fosfolipidů.

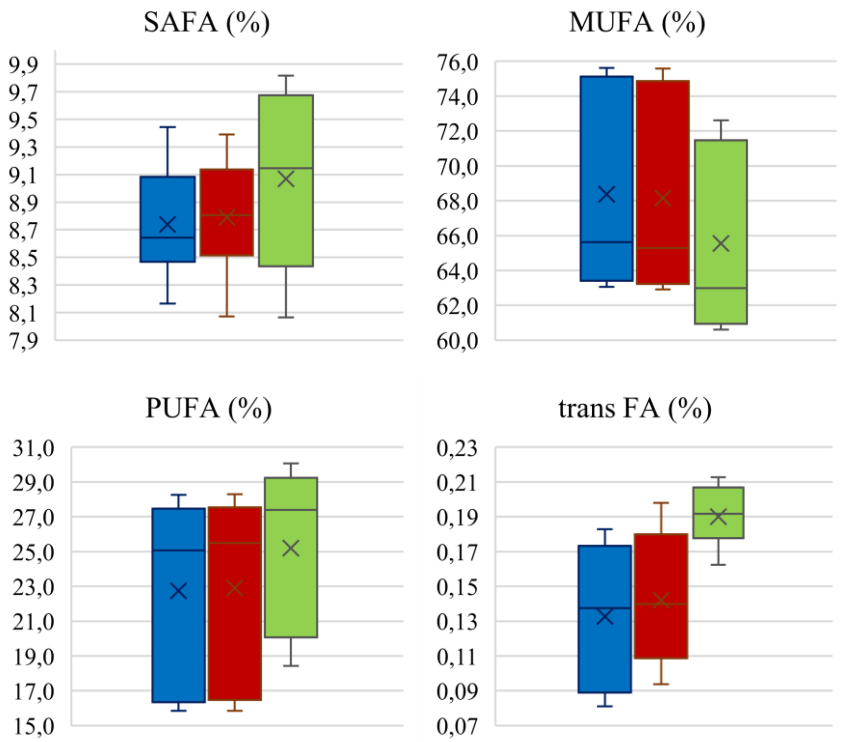
Ve vzorcích řepkových olejů bylo celkem identifikováno 33 mastných kyselin, přičemž 21 z nich je v řepkovém oleji obsaženo ve větším množství než 0,05 % (vyjádřeno jako relativní zastoupení). Výsledky stanovení profilů mastných kyselin vyjádřených v % relativního zastoupení pro jednotlivé liniové odrůdy a způsoby získání oleje jsou shrnuty na obrázku 1. Lze vidět, že největší zastoupení v řepkových olejích má kyselina olejová, dále pak kyselina linolová a kyselina linolenová. Řepkové oleje ze vzorků semen č. 1, 2 a 3 vykazují vyšší zastoupení kyseliny olejové, což odpovídá jejich charakteristice (semena s vysokým obsahem kyseliny olejové). Vzorky č. 1, 2 a 3 mají statisticky významné vyšší zastoupení kyseliny olejové než ostatní vzorky řepkových olejů (vzorky č. 4, 5, 6, 7 a 8), $p<0{,}05$. Tyto odrůdy se označují jako typ „HO“, což značí vysoký obsah kyseliny olejové. *Codex Alimentarius*[5] uvádí rozsah obsahu kyseliny olejové v řepkovém oleji 51,0–70,0 %. Vzorky lisovaných řepkových olejů č. 1–3 obsahovali kyselinu olejovou v rozmezí 72,0–74,5 %, u extrahovaných olejů hodnoty klesly na 69,1–70,5 %, oproti tomu vzorky 4–8 obsahovali kyselinu olejovou v rozmezí 58,5–65,3 %. Zastoupení kyseliny olejové se zvýšilo na úkor kyseliny linolové, jejíž relativní zastoupení se snížilo ($p<0{,}05$). *Codex Alimentarius* uvádí rozsah zastoupení kyseliny linolové v řepkovém oleji 15,0–30,0 %, u vzorků lisovaných olejů č. 1–3 se naměřené hodnoty pohybují v rozmezí 8,0–10,5 %, u extrahovaných řepkových olejů jsou tyto hodnoty 11,2–

13,1 %. Zastoupení kyseliny linolenové u všech vzorků odpovídá standardním hodnotám z rozmezí 5,0–14,0 % daném *Codexem Alimentarius*.



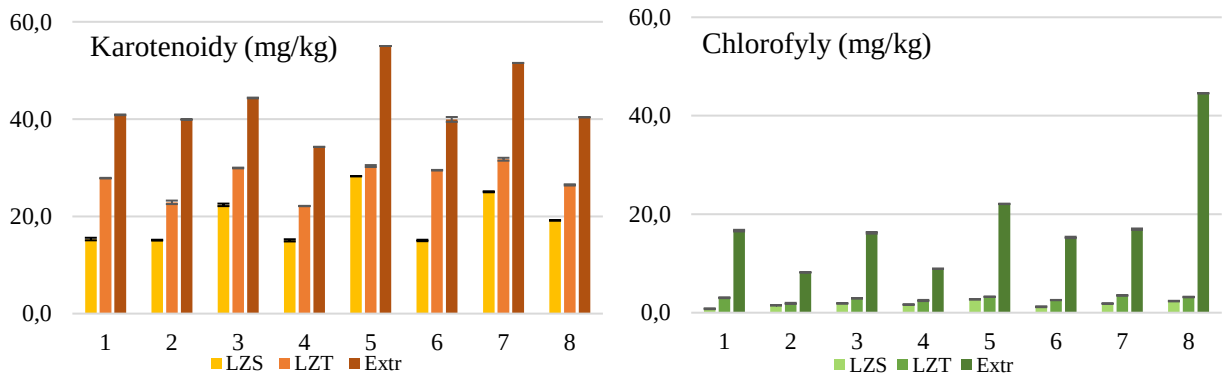
Obrázek 1: Výsledky stanovení profilu mastných kyselin ve vzorcích řepkových olejů získaných z 8 druhů semen řepky ozimé lisováním za studena (LZS), lisováním za tepla (LZT) a extrahováním (Extr)

Co se týče způsobu zpracování, obrázek 2 porovnává zastoupení saturovaných (SAFA), mononenasycených (MUFA), polynenasycených (PUFA) a trans mastných kyselin řepkových olejů získané různými způsoby (LzS, LzT, Extr). Mezi řepkovými oleji lisovanými za studena a za tepla nebyl prokázán rozdíl, rozdíl zde nebyl ani v rámci jednotlivých odrůd ($p>0,05$). Teplota lisování teda nemá vliv na zastoupení mastných kyselin, ale u extrahovaných řepkových olejích vzrostlo relativní zastoupení polynenasycených mastných kyselin, a naopak kleslo zastoupení mononenasycených mastných kyselin (konkrétně kyselina linolová a olejová, viz výše), $p<0,05$. Vliv teploty lisovaní na obsah trans mastných kyselin nebyl statisticky prokázán ($p>0,05$). Zastoupení trans mastných kyselin se u lisovaných řepkových olejů za studena pohybuje v rozmezí 0,08–0,18 %, lisované za tepla v rozmezí 0,09–0,20 % a extrahované 0,16–0,21 %. Skupina extrahovaných olejů měla statisticky průkazně vyšší obsah trans mastných kyselin než obě skupiny olejů lisovaných ($p<0,05$). Pro jednotlivé odrůdy nebyl tento výsledek prokázán ($p>0,05$). Maximální rozdíl relativního zastoupení trans mastných kyselin je v rámci 0,1 %. I přes vyšší zastoupení trans mastných kyselin u extrahovaných olejů tyto hodnoty nejsou nijak vysoké. V průzkumu olejů na českém trhu bylo zjištěno, že zastoupení trans mastných kyselin v řepkových olejích lisovaných za studena se pohybovalo v rozmezí 0,23–0,34 % a v rafinovaných řepkových olejích 0,78–1,20 %.[6]



Obrázek 2: Porovnání zastoupení mastných kyselin pro řepkové oleje lisované za studena, lisované za tepla a pro extrahované řepkové oleje

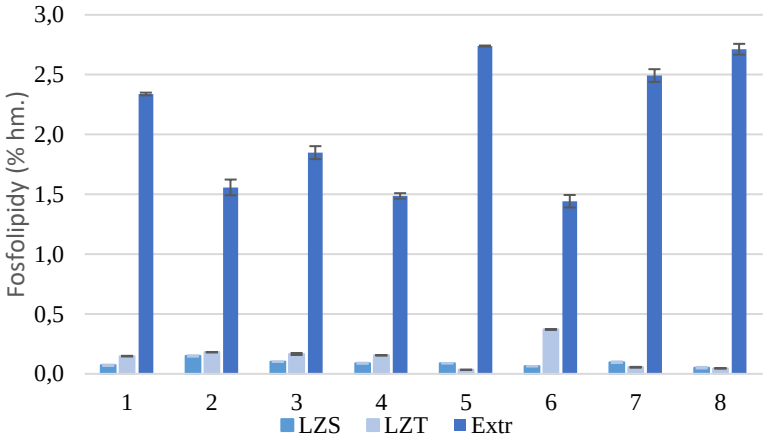
Nejvíce karotenoidů a chlorofylů (měřen jako feofytiny) obsahovaly extrahované oleje oproti olejům lisovaným ($p<0,05$), viz obrázek 3. Při porovnání způsobů lisování měly vyšší obsah karotenoidů oleje lisované za tepla než oleje lisované za studena ($p<0,05$), obsah chlorofylu byl srovnatelný. Výsledky jsou v souladu literaturou[7], která porovnává kvalitativní charakteristiky minoritních složek řepkových olejů získaných různým způsobem zpracování (lisovaný za studena, lisovaný za tepla, extrahovaný a rafinovaný), kdy obsah karotenoidů a chlorofylů vzrůstá od olejů lisovaných za studena, přes oleje lisované za tepla a nejvyšší hodnot nabývají oleje extrahované.



Obrázek 3: Obsah karotenoidů a chlorofylů (vyjádřeno jako feofytin) v analyzovaných vzorcích řepkových olejů

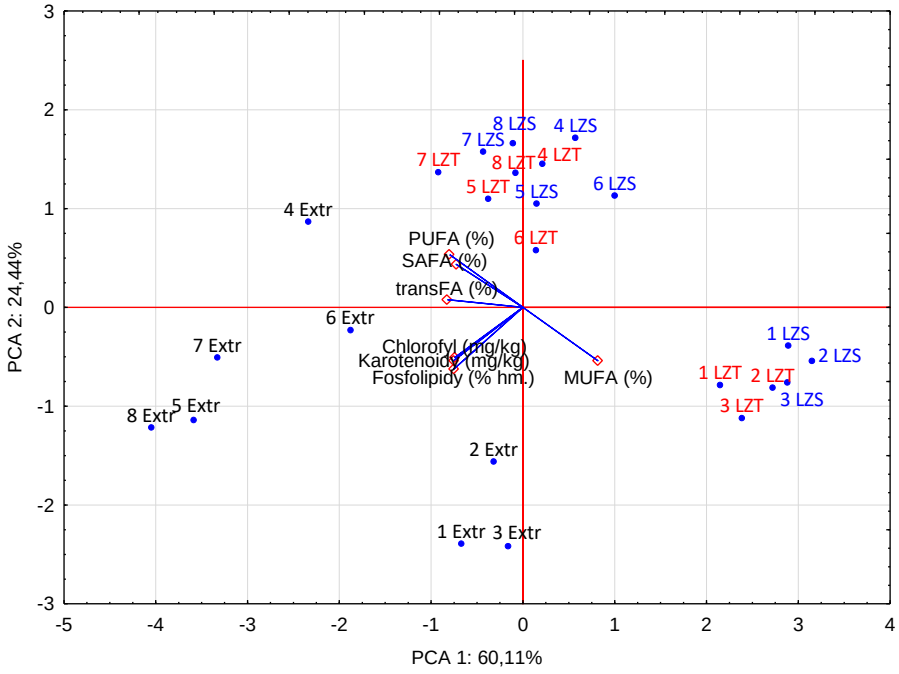
Vliv teploty lisovaní na obsah fosfolipidů nebyl statisticky prokázán ($p>0,05$). Skupina extrahovaných olejů měla statisticky průkazně vyšší obsah trans mastných kyselin než obě

skupiny olejů lisovaných ($p<0,05$). Zastoupení fosfolipidů u lisovaných řepkových olejů za studena se pohybuje v rozmezí 0,05–0,15 % hm., u lisovaných za tepla v rozmezí 0,03–0,18 % hm. a u extrahovaných 1,44–2,74 % hm.



Obrázek 4: Obsah fosfolipidů v analyzovaných vzorcích řepkových olejů

Statistické zpracování naměřených výsledků pro 24 analyzovaných vzorků olejů bylo provedeno v programu Statistica 12.0[8]. Na obrázku 5 jsou prezentovány výsledky analýzy hlavních komponent (PCA) zobrazeny pomocí tzv. biplotu, který současně ukazuje pozice znaků a objektů v prostoru 1. a 2. hlavní komponenty. Pomocí Cattelova indexového diagramu vlastních čísel bylo zjištěno, že první dvě hlavní komponenty jsou statisticky významné a popisují 60,1 % resp. 24,4 % variability dat, celkem tedy 84,5 %. V biplotu lze porovnávat 7 kvalitativních parametrů rozdělených do shluků: 1) PUFA, SAFA a transFA, 2) karotenoidy, chlorofyly a barviva, a 3) MUFA. Extrahované oleje, jak již bylo popsáno výše, mají největší obsah karotenoidů, chlorofylů a fosfolipidů. Skupina olejů č. 1–3LzS a č. 1–3LzT se odlišují vyšším zastoupením MUFA, což je dáno charakteristikou odrůd typu HO – s vysokým obsahem kyseliny olejové.



Obrázek 5: Analýza hlavních komponent PCA; souvislost naměřených výsledků a způsobu zpracování jednotlivých liniových odrůd, biplot diagram pro 1. a 2. hlavní komponentu; 7 kvalitativních parametrů; 24 vzorků řepkových olejů

ZÁVĚR

Bylo analyzováno 24 vzorků řepkových olejů získaných 3 způsoby zpracování (lisování za studena, lisování za tepla a extrahování) z 8 liniových odrůd semen řepky olejky. Vzorky olejů z jednotlivých liniových odrůd se mezi sebou lišily v procentuálním zastoupení mastných kyselin, což odpovídalo jejich charakteristice dle obsahu kyseliny olejové. U obsahu karotenoidů, chlorofylů (feofytinových barviv) a fosfolipidů byl významný rozdíl při způsobu získávání oleje (lisováním či extrakcí), vliv odrůdy nebyl statisticky významný.

PODĚKOVÁNÍ

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt A1_FPBT_2023_004.

LITERATURA

1. Tichá M., Vyzínová P. 2006. Polní plodiny – Řepka olejná (*Brassica napus L.*). Dostupné online: https://cit.vfu.cz/vegetabilie/plodiny/czech/repka.htm (cit. 16. ledna 2024).
2. Zukalová H., Vašák J. 2001. Kvalita řepky, šrotů a pokrutin. *Úroda*. Dostupné online: https://uroda.cz/kvalita-repky-srotu-a-pokrutin/ (cit. 16. ledna 2024).
3. Bečka D., Vašák J., Zukalová, H., Mikšík V. 2007. Řepka ozimá: pěstitelský rádce. Kurent, s. 5. ISBN 978-80-87111-05-5.
4. Filip V. Technologie olejů, tuků, detergentů a kosmetiky. 2012. In: Kadlec P., Melzoch K., Voldřich M. (eds.). *Technologie potravin – Přehled tradičních potravinářských výrob,* KEY Publishing, s. 306–315. ISBN 978-80-7418-14-0.
5. Codex Standard For Named Vegetable Oils. 2001. In *Codex Alimentarius*, 8, 11–25.
6. Krátká G., Šístková I., Čížková H., Kyselka J., Málková M., Brát J., Rajchl A. 2023. Vliv zpracování na organoleptické vlastnosti a chemické složení řepkového oleje. *Výživa a potraviny*, 78 (6), 2–6.

7. Ghazani S. M., García-Llatas G., Marangoni A. G. 2014. Micronutrient Content of Cold-Pressed, Hot-Pressed, Solvent Extracted and RBD Canola Oil: Implications for Nutrition and Quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116 (4), 380–387.
8. Statistica 12.0 (2011): StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA. Dostupné online: http://www.statsoft.com/ (cit. 16. ledna 2024).

P17

Shrnutí výsledků a výstupů Grantu QK1910100

Summary of results and outputs of Grant QK1910100

Tereza Škorpilová[1], Marcela Sluková[2], Irena Němečková[3], Josef Kameník[4], Aleš Rajchl[1]

[1] Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice
[2] Ústav sacharidů a cereálií, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice
[3]Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6
[4] Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, FVHR, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

SOUHRN

Reformulace potravin je důležitá u potravin denní spotřeby, které obsahují vysoké množství soli, tuku nebo cukru. Naopak u pochutin, které spotřebitelé konzumují výjimečně, reformulace nepřinese požadovaného vlivu na zdraví konzumentů. Proto byl tento grant zaměřen na reformulaci potravin denní spotřeby, kdy největší důraz byl kladen na snížení obsahu soli a tuku, jejichž vysoké příjmy ve stravě způsobují konzumentům největší zdravotní potíže.

Klíčová slova: *reformulace, snížení obsahu soli a tuku*

SUMMARY

Food reformulation is important for daily consumption foods that contain high amounts of salt, fat or sugar. On the contrary, in the case of snacks that consumers consume exceptionally, the reformulation will not bring the desired effect on the health of consumers. Therefore, this grant was aimed at reformulating daily food, where the greatest emphasis was placed on reducing the salt and fat content, whose high intakes in the diet cause the greatest health problems for consumers.

Keywords: *reformulation, reduction of salt and fat content*

CÍLE PROJEKTU

Cílem projektu bylo reformulovat běžné potraviny (masné, mléčné a pekárenské výrobky) ve spolupráci s potravinářskými podniky. Posoudit možnosti technologické náročnosti výroby těchto výrobků v průmyslovém měřítku a zhodnotit vliv reformulace na jejich senzorické, fyzikálně-chemické a mikrobiální vlastnosti.

Dalším cílem projektu bylo podělit se o získané závěry s laickou i odbornou veřejností včetně potravinářských podniků formou seminářů a workshopů.

REFORMULOVANÉ VÝROBKY V RÁMCI PROJEKTU

V průběhu řešení projektu v letech 2019 až 2023 byly reformulovány výrobky ze tří kategorií potravinářských odvětví, a to pekařské výrobky (chlebíčkové veky, muffiny, vánočka, speciální tmavý chléb), sýry (čerstvé sýry, nízkodohřívané sýry eidamského typu, bílé nezrající sýry bez slaného nálevu, jednodruhové neochucené tavené sýry a sýry s modrou plísní uvnitř hmoty) a masné výrobky (špekáčky, měkké salámy – Gothajský salám, Junior salám, uzená masa). Reformulace výrobků spočívala především ve snížení obsahu soli a tuku.

DOPORUČENÍ PRO VÝROBU REFORMULOVANÝCH POTRAVIN

Na základě výsledků projektu byla formulována tato doporučení pro jednotlivé typy výrobků:

Mléčné výrobky:

1. Reformulovat je možné jen sýry, u kterých je z mikrobiálního hlediska bezpečná výroba.
2. Senzorickou přijatelnost ovlivňuje konzistence.
3. Negativní dopad reformulace může zmírnit náhrada NaCl za KCl.
4. Náhrada Na tavicích solí za K je finančně náročná.
5. Optimalizaci složení směsi tavicích solí.
6. Obsah soli v sýrech regulovat dobou zdržení v solné lázni.
7. V případě pachutí vyzkoušet jinou základní či doplňkovou kulturu.
8. Nižší obsah soli bývá přijatelnější u déle zrajících sýrů s intenzivnějším a komplexnějším senzorickým profilem.
9. Reformulace ochucených variant sýrů je z mikrobiologického i senzorického hlediska náročnější.
10. Každou reformulaci odzkoušet za konkrétních technologických a mikrobiologických podmínek daného provozu.
11. Výraznější snížení obsahu soli může vést k objevení nového typu sýra.

Pekařské výrobky:

1. Hranici doporučenou WHO (1,2 %) lze u většiny výrobků dosáhnout relativně bez problémů, nejlépe v kombinaci s prohloubením chuti výrobků například přídavkem kvasu.
2. Částečné nahrazení NaCl pomocí KCl je možné pouze do jisté míry.
3. Použití modifikovaných mikrokrystalických forem soli je funkční, ale pro široké použití ve výrobě příliš nákladné.
4. Velký význam má snižování glykemického indexu chleba a pečiva, čehož lze dosáhnout zvyšováním obsahu vlákniny, nebo sofistikovaněji úpravou poměru rychle stravitelného škrobu vůči pomalu stravitelnému a rezistentnímu škrobu.
5. Snižování obsahu tuku v jemném pečivu má smysl pouze tam, kde se tyto výrobky staly předmětem denní konzumace zejména u dětí.

6. U výrobků, u nichž existuje racionální potřeba snížení obsahu tuku, je vhodná substituce významného podílu tuku suspenzí některých druhů vlákniny, například inulinu.

Masné výrobky

1. Masné výrobky lze připravit s podílem soli 1,7 %.
2. Snížení podílu soli na 1,7 % není třeba kompenzovat přídavkem alternativních chloridů.
3. Pro reformulované masné výrobky je třeba zajistit dostatečný podíl masa v receptuře, nedoporučuje se snížený podíl soli 1,7 % kombinovat ve výrobcích s náhradou masa různými typy emulzí apod.
4. V oboru zpracování masa je třeba zahájit osvětu s cílem snižovat podíl soli v masných výrobcích a masných polotovarech uvolňovaných do tržní sítě.
5. Reformulace zaměřené na snižování podílu tuku vyžadují větší zásah do receptury za účelem zachování šťavnatosti výrobku.
6. Přídavek dalších látek (např. vitamínů) za účelem zvýšení nutriční hodnoty masných výrobků se nemusí setkat s pochopením spotřebitelské veřejnosti a z tohoto hlediska má jen minoritní dopad na reformulace.

UPLATNĚNÍ VÝSLEDKŮ

Všechny výsledky získané během řešení tohoto projektu byly publikovány vědecké, odborné i laické veřejnosti prostřednictvím seminářů a workshopů v Praze a Brně, článků v impaktovaných a recenzovaných časopisech a prezentací a posterů na konferencích v České republice i na Slovensku.

V průběhu řešení projektu se uskutečnilo ve spolupráci s Potravinářskou komorou ČR 7 seminářů a 8 workshopů. Na těchto akcích se potkávali zástupci výrobních podniků, obchodních řetězců, odborné veřejnosti, odborníků na výživu i laická veřejnost. Účastníci byli seznamováni s průběžnými výsledky projektu a s jeho dalším směřováním. Z toho vyplynulo pro řešitele několik zajímavých podnětů od účastníků, na jejichž základě řešitelé upravili směřování výběru produktů pro reformulaci. Dále na těchto přednáškách zazněly přednášky odborníků na téma výživa a reformulace, možnosti reformulace potravin a další. Účastníci měli možnost senzoricky ohodnotit již některé reformulované výrobky.

Během průběhu projektu bylo publikováno 5 impaktovaných a 6 recenzovaných článků v odborných časopisech, které seznámily vědeckou i odbornou veřejnost s klíčovými výsledky a novými poznatky v oblasti reformulace potravin. Dílčí výsledky byly rovněž prezentovány vědecké i odborné veřejnosti skrz prezentace a posterové sdělení na národních i mezinárodních konferencích a symposiích. Za celou dobu řešení bylo na konferencích 19 přednášek a posterů.

Prakticky směřované výstupy (užitné vzory (2x), Cechovní nomy (3x) a Metodické doporučení pro reformulace potravin) najdou uplatnění v potravinářském průmyslu, protože z diskusí s výrobními podniky na seminářích a workshopech vyplývá, že podniky o reformulaci potravin mají zájem. Nejlépe využitelným výstupem v tomto ohledu jsou Metodické doporučení pro reformulaci potravin, kde výrobci najdou obecná pravidla, jak své výrobky reformulovat.

ZÁVĚR

- Snížení obsahu soli, na určitou hladinu, je možné i bez náhrady jinými solemi.
- Je potřeba dělat osvětu v oblasti snižování obsahu soli v potravinách.
- Snižování obsahu tuku je vhodné řešit u potravin denní spotřeby.
- Snížení obsahu tuku je potřeba kompenzovat, aby nebyly negativně ovlivněny senzorické vlastnosti.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla s finanční podporou Národní agentury pro zemědělský výzkum Ministerstva zemědělství České republiky při řešení projektu QK1910100 (Vliv reformulace na trvanlivost a fyzikálně chemické vlastnosti potravinářských výrobků) v programu ZEMĚ.
Na projektu se dále podíleli potravinářské podniky Řeznictví H + H, s.r.o. a Pekařská a cukrářská výroba BEAS, a.s.

KONTAKTNÍ ADRESA

Ing. Tereza Škorpilová, Ph.D., Ústav konzervace potravin, FPBT, VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha - Dejvice, email: skorpilt@vscht.cz, tel.: +420 220 443 003

P18

Změny stability potravin vůči žluknutí po ošetření mikrovlnným zářením

Changes in stability of food against rancidity after treatment with microwave radiation

Petra Škvorová, Lenka Kouřimská

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, ČZU v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha 6 – Suchdol

SOUHRN

Ořechy a mandle jsou běžnou součástí našeho jídelníčku, ale při přepravě a skladování jsou náchylné na škůdce a žluknutí. Cílem této studie bylo posoudit vhodnost aplikace ošetření mikrovlnným zářením na kontinuální mikrovlnné lince, které by mohlo eliminovat škůdce, ale nijak negativně neovlivnilo oxidační stabilitu ořechů a mandlí. Vliv ošetření na barvu, sušinu a stabilitu proti oxidačnímu žluknutí u arašídů, mandlí a lískových ořechů byl hodnocen bezprostředně po jejich ošetření. Peroxidové číslo (PV) bylo stanoveno během následujících tří měsíců skladování při skladovacích teplotách 20, 40 a 60 °C pouze pro sledování oxidační stability. Studie odhalila významný nárůst obsahu sušiny u všech ošetřených ořechů a mandlí ve srovnání s neošetřenými vzorky. Změny barevných parametrů byly pozorovány především u loupaných a mletých neloupaných arašídů. Hodnoty PV vykazovaly nárůst s dobou skladování a teplotou, přičemž arašídy vykazovaly nejvýznamnější rozdíly mezi ošetřenými a neošetřenými vzorky. Ošetření vyvolalo změny v odolnosti vzorků vůči žluknutí. Závěrem lze říci, že rozsah změn způsobených mikrovlnnou úpravou závisel na upravovaném materiálu a následných podmínkách skladování.

Klíčová slova: *mandle, arašídy, lískové ořechy, oxidace, peroxidové číslo*

SUMMARY

Nuts and almonds are commonly included in our diet, but they are susceptible to pests and rancidity during their transportation and storage. The aim of this study was to assess the suit-ability of applying microwave radiation treatment on a continuous microwave line, which could deactivate pests, but also change the stability of nuts and almonds against oxidation. The effect of treatment on colour, dry matter, and stability against oxidative rancidity in peanuts, almonds and hazelnuts was assessed immediately after their treatment. Peroxide value (PV) was determined over the next three storage months at storage temperatures of 20, 40 and 60°C to monitor oxidative sta-bility. The study revealed a significant increase in the dry matter content of all treated nuts and almonds compared to untreated samples. Changes in colour parameters were observed primarily in peeled and ground unpeeled peanuts. PV values exhibited an increase with storage time and temperature, with peanuts showing the most significant differences between treated and untreated samples. The treatment induced changes

in the samples' resistance to rancidity. In conclusion, the extent of changes caused by microwave treatment depended on the treated material and the subse-quent storage conditions.

Keywords: *almonds, peanuts, hazelnuts, oxidation, peroxide number*

ÚVOD

Při ošetření potravin mikrovlnným zářením dochází ke změně jejich stability vůči žluknutí. Primárně závisí rozsah těchto změn na ošetřované surovině, délce a intenzitě mikrovlnného ohřevu a sekundárně také na podmínkách následného skladování. Cílem práce bylo posoudit vhodnost aplikace ošetření mikrovlnným zářením pro hygienizaci suchých skořápkových plodů. Sledovat vliv mikrovlnného záření na změny barvy, obsahu sušiny a stability skořápkových plodů vůči žluknutí, při použití přednastavené délky a intenzity mikrovlnného záření na mikrovlnné lince firmy IBK Trade.

Mikrovlnné záření

Mikrovlny jsou vysokofrekvenční elektromagnetické vlny. Jejich vlnové délky se pohybují v rozmezí od 1 mm do 1 m a frekvenční pásmo v rozmezí 300 MHz až 300 GHz. Mikrovlnné záření je umožněno kombinací elektrických a magnetických polí (Rothbauer et al. 1985). Nejčastěji používaná je frekvence 2450 MHz, která je jako jediná legislativou povolená pro využití v potravinářství v České republice (Vrba 2001). Využití mikrovlnného ohřevu v potravinářském průmyslu zahrnuje sušení, pasteraci, sterilaci, rozmrazování, temperování nebo pečení potravinářských materiálů (Guo et al. 2017).

Mikrovlny mají nízký obsah energie ve fotonech (0,03 kcal/mol; 0,126 kJ/mol), proto nemají přímý vliv na molekulární struktury, jelikož chemické vazby mají energii v rozmezí od 20 do 50 kcal/mol (od 83,736 do 209,34 kJ/mol) (Aguilar-Reynosa et al. 2017). Mikrovlnné záření je tak z tohoto důvodu řazeno mezi záření neionizující (Yin 2012). Mikrovlny nejsou schopny vytvářet volné radikály nebo narušovat molekulární vazby v biologických materiálech (Tang 2015; Eke et al. 2017).

Princip mikrovlnného ohřevu

Mikrovlnný ohřev se liší od konvenčního ohřevu tím, že k mikrovlnnému ohřevu dochází prostřednictvím přímé interakce mikrovln s materiálem (Bhattacharya & Basak 2017). Přeměna mikrovlnné energie na teplo v potravinách je způsobena přítomností vody. Vzhledem k tomu, že molekuly vody jsou bipolární a otáčejí se v rychle se měnícím elektromagnetickém poli (2,45 miliardkrát za sekundu), v potravině dochází k tvorbě tepla v důsledku tření mezi jednotlivými molekulami vody. Protože mikrovlny mohou pronikat přímo do materiálu, dochází k ohřevu zevnitř. Proto je prohřátí celé potraviny poměrně rychlé (Chandrasekaran et al. 2013; Guo et al. 2017).

Mezi hlavní výhody mikrovln se řadí úspora energie, zkrácení doby zpracování a tím i snížení provozních nákladů. Další výhodou mikrovlnného ohřevu je vyšší energetická účinnost, protože většina elektromagnetické energie je přeměněna na teplo a ztráty nejsou tak vysoké jako u konvenčního ohřevu (Chizoba Ekezie et al. 2017). Mikrovlnné sušení vyžaduje také menší podlahovou plochu ve srovnání s konvenčními sušičkami, protože zvýšení rychlosti

zpracování umožňuje konstrukci kompaktnějších zařízení (Vadivambal & Jayas 2007; Guo el al. 2017). Ačkoli mikrovlnný ohřev nabízí mnohé výhody oproti tradičním způsobům zpracování potravin, hlavním problémem je nerovnoměrné rozložení teploty, které má za následek nedostatečné prohřátí materiálu v určitých jeho částech (Chizoba Ekezie et al. 2017). Další nevýhodou je obtížná kontrola teploty produktu (Chandrasekaran et al. 2013).

Nutriční složení suchých skořápkových plodů

Suché skořápkové plody jsou velice prospěšnou součástí naší stravy a důležitou složkou pekařských, cukrovinkářských a snack výrobků. U ořechů je z nutričního hlediska významný především obsah nenasycených mastných kyselin. Dále jsou ořechy velmi bohaté na bílkoviny, vlákninu a vitaminy rozpustné ve vodě (zejména vitaminy B1, B6, C) i vitaminy rozpustné v tucích (A, D, E, K). Vitamin E je nejvíce zastoupeným vitaminem ve skořápkových plodech a je to významný antioxidant. Skořápkové plody jsou také zdrojem minerálních látek a stopových prvků jako jsou vápník, síra, hořčík, fosfor, železo, zinek, mangan a bor (Jayasena et al. 2019; Mocciaro et al. 2019; Fantino et al. 2020). Obsah vlhkosti, obsah tuku a složení mastných kyselin, obsah antioxidantů (nejvýznamnější je vitamin E) a míra žluknutí jsou považovány za hlavní indikátory kvality skladovaných ořechů (Duduzile Buthelezi et al. 2019).

Vliv mikrovlnného záření na kvalitu tuků

Ořechy jsou potraviny, které jsou velice bohaté na tuk zvláště na nenasycené mastné kyseliny. Z tohoto důvodu je jakostní stabilita ořechů během úpravy a následného skladování limitována především oxidačním žluknutím a lipolýzou (neboli žluknutím hydrolytickým). Hodnota peroxidového čísla (PV) je využívána jako indikátor kvality tuků a olejů. Díky této hodnotě můžeme zjistit, zda došlo k jejich oxidaci (Smith & Barringer 2014; Duduzile Buthelezi et al. 2019).

Dle studie Smith a Barringer se hodnota PV surových arašídů se významně nelišila od hodnot ošetřených arašídů, což naznačuje, že mikrovlnné ošetření příliš hodnotu PV neovlivňuje. Studii s ošetřováním arašídů prováděli také Raigar et al. (2017) a jejich výsledky ukazují, že při vyšší mikrovlnné energii a delší době úpravy potraviny dochází k poklesu hodnoty PV. Jittrepoch et al. (2010) sledovali změny oxidační stability u arašídů po mikrovlnném ohřevu o výkonu 900 W. PV takto ošetřených arašídů významně rostlo ($p < 0,05$) s prodlužujícím se časem, po který mikrovlny na vzorky působily. Hodnoty PV vzorků byly v rozmezí 2,31–7,55 meq O2/kg tuku, ale stále se daly považovat za přijatelné. Aljuhaimi a Özcan (2018) u surových burských ořechů došli k hodnotě PV 18,63 ± 1,19 meq O2 na kg oleje. Využití mikrovlnného ošetření způsobilo pokles PV na hodnotu 12,50 ± 0,81 meq O2 na kg oleje. Hodnota PV u surových vzorků vlašských ořechů byla ve studii Das et al. (2014b) 2,89 ± 0,048 meq O2 na kg oleje. Hodnota PV poklesla, když došlo ke zvýšení výkonu mikrovlnného záření a délky ošetření.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Materiál

Materiálem, který byl použit v experimentální části práce byly tři druhy suchých skořápkových plodů. Jednalo se o neloupané surové arašídy, déle skladované loupané mandle

a déle skladované loupané lískové ořechy, které byly dodány firmou IBK Trade a ošetřeny na jejich mikrovlnné lince při intenzitě mikrovlnné energie 4 x 2 kW. Všechny vzorky byly v mikrovlnné části 2 minuty a teplota při přechodu do dohřevné zóny se pohybovala okolo 100 až 105 °C. V dohřevné zóně byly vzorky po dobu 5 minut, kdy první patro zajišťovalo teplotu 105 °C, ostatní dvě patra sloužila pro postupné chladnutí vzorků.

Metodika

Vzorky všech tří druhů ořechů byly ošetřeny na mikrovlnné lince firmy IBK Trade při jejím prvním spuštění. Po ošetření byly vzorky rozděleny na tři stejné skupiny, každá skupina byla dále rozdělena na tři podskupiny. Stejným způsobem byly rozděleny i skupiny neošetřených vzorků. Byl proveden skladovací pokus s následným měřením peroxidového čísla. Skladování probíhalo při teplotách 20 °C, 40 °C a 60 °C po dobu tří měsíců. Analýza na stanovení hodnot peroxidového čísla byla provedena ihned po ošetření a další analýzy pak byly provedeny vždy po jednom měsíci skladování pro vzorky ve všech třech skladovacích teplotách. Celkem byla provedena tři měření od každé skladovací teploty. Analyzovány byly vždy vzorky homogenizované ošetřené i neošetřené ve dvou opakováních. Analyzovány byly vždy pouze jedlé části vzorků.

Stanovení peroxidového čísla

Tuk z cca 5 g vzorku byl extrahován za studena v Erlenmeyerově baňce pomocí 50 ml petroletheru. Po extrakci byl vzorek přefiltrován (s přídavkem 1,25 g bezvodého síranu sodného) a odpařen na rotační vakuové odparce Laborota 4000 (120 otáček.min^{-1}, 40 °C, 5 minut; Německo). Cílem byla šetrná extrakce a získání dostatečného množství tuku pro stanovení oxidační stability, nikoliv kvantitativní extrakce veškerého tuku ze vzorku. Extrahovaný tuk byl použit ke stanovení peroxidového čísla dle normy ČSN EN ISO 3960 Živočišné a rostlinné tuky a oleje - Stanovení peroxidového čísla - Jodometrické (vizuální) stanovení koncového bodu. Množství tuku bylo dáno množstvím vyextrahovaného tuku.

Statistické metody

K vyhodnocení výsledků byl použit program STATISTICA 12 (StatSoft, Inc.). Na určení statisticky významných rozdílů mezi vzorky byla použita multifaktorová ANOVA s následným post-hoc Sheffeho testem na hladině významnosti 95 %.

VÝSLEDKY

Peroxidové číslo

Peroxidové číslo (PV) se vyjadřuje jako množství peroxidicky vázaného kyslíku v tuku vyjádřené v mM aktivního O_2 na 1 kg tuku. U každého vzorku byla provedena dvě paralelní měření a z nich byla vypočítána průměrná hodnota PV. Průměrné výsledky jednotlivých druhů vzorků jsou uvedeny v tabulkách 3 až 5.

Tabulka 3: Peroxidové číslo (mM O_2/kg) arašídů v závislosti na ošetření, skladovací teplotě (°C) a délce skladování v měsících

		PV (mM O_2/kg) v jednotlivých měsících skladování			
ošetření	**skladovací teplota**	**0**	**1**	**2**	**3**
OŠ	20 °C	40,76	82,74	85,53	98,70
KON	20 °C	7,22	8,33	9,32	12,08
OŠ	40 °C		106,93	122,47	145,38
KON	40 °C		8,60	10,40	13,04
OŠ	60 °C		143,06	177,63	161,40
KON	60 °C		9,27	11,27	19,93

OŠ – ošetřené vzorky, KON – neošetřené vzorky

Tabulka 4: Peroxidové číslo (mM O_2/kg) mandlí v závislosti na ošetření, skladovací teplotě (°C) a délce skladování v měsících

		PV (mM O_2/kg) v jednotlivých měsících skladování			
ošetření	**skladovací teplota**	**0**	**1**	**2**	**3**
OŠ	20 °C	2,18	4,09	6,11	6,41
KON	20 °C	1,44	2,06	3,15	4,29
OŠ	40 °C		5,15	6,70	7,18
KON	40 °C		4,39	4,57	5,83
OŠ	60 °C		14,14	30,63	85,36
KON	60 °C		4,98	16,20	17,02

OŠ – ošetřené vzorky, KON – neošetřené vzorky

Tabulka 5: Peroxidové číslo (mM O_2/kg) lískových ořechů v závislosti na ošetření, skladovací teplotě (°C) a délce skladování v měsících

		PV (mM O_2/kg) v jednotlivých měsících skladování			
ošetření	**skladovací teplota**	**0**	**1**	**2**	**3**
OŠ	20 °C	5,00	5,74	7,81	7,85
KON	20 °C	4,88	5,32	7,02	8,28
OŠ	40 °C		8,59	8,82	10,23
KON	40 °C		8,40	8,86	10,19
OŠ	60 °C		11,86	12,29	16,99
KON	60 °C		11,96	13,24	20,66

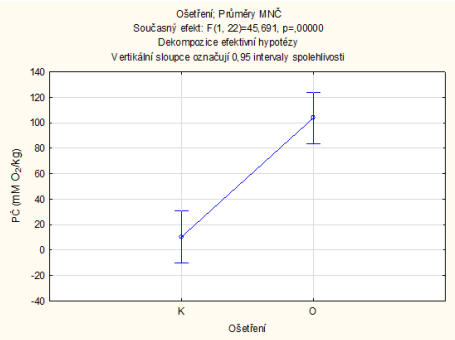
OŠ – ošetřené vzorky, KON – neošetřené vzorky

Z výsledků je jasně vidět, že po ošetření došlo prakticky u všech pozorovaných vzorků k nárůstu PV oproti vzorkům neošetřeným. Jednou z možných příčin je teplené působení mikrovln, neboť rozdíl v PV mezi ošetřenými a neošetřenými vzorky je patrný ihned po samotném ošetření. Dalším důležitým faktorem je skladovací teplota. Z výsledků je jasně vidět, a to se potvrdilo u všech vzorků, že čím je skladovací teplota nižší, tím je náchylnost skořápkových plodů k degradaci tuků nižší. Samozřejmostí, která se vždy projeví, je také samotná kvalita ošetřované suroviny.

Nárůst PV u ošetřených vzorků nebyl u všech třech pozorovaných skořápkových plodů stejný. Statisticky průkazný rozdíl mezi vzorky ošetřenými a neošetřenými byl zjištěn pouze u arašídů (obrázek 3), kdežto u mandlí a lískových ořechů statisticky významný rozdíl prokázán nebyl, i když při srovnání hodnot i zde byly zjištěny vyšší hodnoty PV u vzorků ošetřených. Rozhodně se zde projevil rozdíl mezi složením jednotlivých pozorovaných vzorků.

Všechny pozorované skořápkové plody obsahují vysoký obsah tuku. Největší podíl tuku je u lískových ořechů - okolo 60 %, u mandlí a arašídů se obsah tuku pohybuje okolo 50 %. Rozdíly v zastoupení mastných kyselin částečně mohou vysvětlit výrazně vyšší PV u mikrovlnně ošetřených arašídů, protože mají více PUFA, které jsou náchylnější k oxidaci než MUFA. V ochraně skořápkových plodů před žluknutím jsou velmi důležité antioxidanty. Při mikrovlnném ošetření vznikají jako produkty Maillardovy reakce, ovšem velký vliv mají i přirozeně se vyskytující tokoferoly. Z výsledků u arašídů je vidět, že po prvním měsíci skladování byl nárůst PV u ošetřených vzorků ve všech třech skladovacích teplotách dvojnásobný až trojnásobný, ovšem posléze se již o tak výrazné nárůsty PV nejednalo. U kontrolních vzorků se PV zvedalo velmi pozvolně. Jelikož byl u arašídů tak výrazný nárůst PV ihned po ošetření, dá se předpokládat, že pro tento typ vzorků se jednalo o příliš vysokou dávku mikrovlnného záření nebo příliš dlouhou dobu působení mikrovlnného záření. Jelikož se jednalo o první zpuštění mikrovlnné linky IBK Trade mohl být problém i technického charakteru.

Srovnání s literaturou je ovšem problematické, protože většina autorů využívá výrazně menší výkon mikrovlnného ohřevu, než byl aplikován v této práci, a navíc většina studií vychází pouze z laboratorního ošetření, kdežto v této studii byly vzorky ošetřeny na komerční lince při jejím prvním zpuštění. Celkově lze konstatovat, že v porovnání s ostatními studiemi na rozdílných druzích ořechů bylo v tomto experimentu dosaženo ve většině případů nižších hodnot PV, což vypovídá o dobré kvalitě lískových ořechů, mandlí a hraničně i arašídů po ošetření na mikrovlnné lince firmy IBK Trade.



Obrázek 3: Statistické hodnocení rozdílů PV mezi ošetřenými (O) a neošetřenými (K) vzorky arašídů

ZÁVĚR

Na základě experimentu zaměřeného na posouzení vlivu mikrovlnného záření na kvalitu suchých skořápkových plodů (arašídy, mandle a lískové ořechy) lze souhlasit s hypotézou, že při ošetření potravin mikrovlnným zářením dochází ke změně jejich stability vůči žluknutí. Stejně tak lze konstatovat, že primárně závisí rozsah těchto změn na ošetřované surovině, délce a intenzitě mikrovlnného ohřevu a sekundárně pak na podmínkách následného skladování.

Po ověření výsledků této práce lze využívat pro hygienizaci lískových ořechů a mandlí přednastavenou délkou (2 minuty) a intenzitu (4 x 2 kW) mikrovlnného ošetření na mikrovlnné lince IBK Trade. U arašídů byl zjištěn statisticky významný rozdíl v hodnotách PV ošetřených a neošetřených vzorků, přesto i zde lze nechat intenzitu i délku mikrovlnného ošetření na přednastavené úrovni, jelikož se stále jednalo o přijatelné hodnoty PV. Lze tedy konstatovat,

že při předepsané intenzitě a délce ošetření za pomoci mikrovln si suroviny zachovaly přijatelnou kvalitu v nich obsažených olejů, a to i při vyšších skladovacích teplotách, z čehož se dá usuzovat, že by jakost těchto výrobků měla být zachována po celou dobu šesti měsíců jejich skladování a prodeje až do data minimální trvanlivosti.

PODĚKOVÁNÍ

METROFOOD: Tato práce vznikla za podpory výzkumné infrastruktury METROFOOD CZ (MEYS Grant číslo : LM2023064).

KONTAKT

skvorova@af.czu.cz

LITERATURA

1. Aguilar-Reynosa A, Romaní A, Rodríguez-Jasso R, Aguilar CN, Garrote G, Ruiz HA. 2017. Microwave heating processing as alternative of pretreatment in second-generation biorefinery: An overview. Energy Conversion and Management **136**:50-65.
2. Aljuhaimi F, Özcan MM. 2018. Influence of oven and microwave roasting on bioproperties, phenolic compounds, fatty acid composition, and mineral contents of nongerminated peanut and germinated peanut kernel and oils. Journal of Food Processing and Preservation 42 (e13462). DOI: 10.1111/jfpp.13462.
3. Bhattacharya M, Basak T. 2017. A comprehensive analysis on the effect of shape on the microwave heating dynamics of food materials. Innovative Food Science & Emerging Technologies **39**:247-266.
4. ČSN EN ISO 3960. 2017. Živočišné a rostlinné tuky a oleje - Stanovení peroxidového čísla - Jodometrické (vizuální) stanovení koncového bodu. Úřad pro technickou.
5. Duduzile Buthelezi NM, Tesfay SZ, Ncama K, Magwaza LS. 2019. Destructive and non-destructive techniques used for quality evaluation of nuts: A review. Scientia Horticulturae **247**:138-146.
6. Eke BC, Jibiri NN, Bede EN, Anusionwu BC, Orji CE, Alisi CS. 2017. Effect of ingestion of microwaved foods on serum anti-oxidant enzymes and vitamins of albino rats. Journal of Radiation Research and Applied Sciences **10**:148-151.
7. Fantino M, Bichard C, Mistretta F, Bellisle F. 2020. Daily consumption of pistachios over 12 weeks improves dietary profile without increasing body weight in healthy women: A randomized controlled intervention. Appetite 144 (e104483) DOI: 10.1016/j.appet.2019.104483.
8. Guo Q, Sun D-W, Cheng J-H, Han Z. 2017. Microwave processing techniques and their recent applications in the food industry. Trends in Food Science & Technology **67**:236-247.
9. Chandrasekaran S, Ramanathan S, Basak T. 2013. Microwave food processing-A review. Food Research International **52**:243-261.
10. Chizoba Ekezie FG, Sun DW, Han Z, Cheng JH. 2017. Microwave-assisted food processing technologies for enhancing product quality and process efficiency: A review of recent developments. Trends in Food Science & Technology **67**:58-69.
11. Jayasena S, Koppelman SJ, Nayak B, Taylor SL, Baumert JL. 2019. Comparison of recovery and immunochemical detection of peanut proteins from differentially roasted peanut flour using ELISA. Food Chemistry **292**:32-38.
12. Jittrepotch N, Kongbangkerd T, Rojsuntornkitti K. 2010. Influence of microwave irradiation on lipid oxidation and acceptance in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seeds. International Food Research Journal **17**:173-179.
13. Mocciaro G, Bresciani L, Tsiountsioura M, Martini D, Mena P, Charron M, Brighenti F, Bentley S, Harvey M, Collins D, Del Rio D, Ray S. 2019. Dietary absorption profile, bioavailability of (poly)phenolic compounds, and acute modulation of vascular/endothelial function by hazelnut skin drink. Journal of Functional Foods 63 (e103576) DOI: 10.1016/j.jff.2019.103576.

14. Poogungploy P, Poomsa-ad N, Wiset L. 2018. Control of microwave assisted macadamia drying. Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy **52**:60-72.
15. Raigar RK, Upadhyay R, Mishra HN. 2017. Optimization of microwave roasting of peanuts and evaluation of its physicochemical and sensory attributes. Journal of Food Science and Technology **54**:2145-2155.
16. Rothbauer M. 1985. Mikrovlnné polovodičové součástky a jejich použití. Státní nakladatelství technické literatury, Praha.
17. Smith AL, Barringer SA. 2014. Color and Volatile Analysis of Peanuts Roasted Using Oven and Microwave Technologies. Journal of Food Science **79**:C1895-C1906.
18. Tang J. 2015. Unlocking Potentials of Microwaves for Food Safety and Quality. Journal of Food Science **80**:E1776-E1793.
19. Uysal N, Sumnu G, Sahin S. 2009. Optimization of microwave-infrared roasting of hazelnut. Journal of Food Engineering **90**:255-261.
20. Vadivambal R, Jayas DS. 2007. Changes in quality of microwave-treated agricultural products - a review. Biosystems Engineering **98**:1-16.
21. Vrba J. 2001. Aplikace mikrovlnné techniky. České vysoké učení technické, Praha.
22. Yaylayan VA, Kaminsky E. 1998. Isolation and structural analysis of maillard polymers: caramel and melanoidin formation in glycine/glucose model system. Food Chemistry **63**:25-31.
23. Yin C. 2012. Microwave-assisted pyrolysis of biomass for liquid biofuels production. Bioresource Technology **120**:273-284.

P19

Tolerance nežádoucích bakterií *Asaia lannensis* k chitosanu

Tolerance of undesirable bacteria Asaia lannensis to chitosan

Eva Šviráková, Katarína Lazoriková, František Kvasnička

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie,
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Přestože nealkoholické nápoje patří mezi bezpečné výrobky, během jejich výroby, skladování nebo distribuce může docházet k nežádoucí mikrobiální kontaminaci s následným kažením a případnými zdravotními problémy u konzumentů. Na kontaminaci nápojů se často podílejí acidotolerantní octové bakterie. K obávaným patří například bakterie druhů *Asaia lannensis a Asaia bogorensis* mající statut podmíněně patogenních bakterií. K účinným cestám jejich eliminace se nabízí mimo jiné i použití přírodní antibakteriálně aktivní látky chitosanu. Cílem této práce je zjistit toleranci bakterií *Asaia lannensis k* chitosanu v modelových Sabouraudových bujónech s využitím laboratorního bioreaktoru RTS–8, a také v modelových sirupech/cukerných roztocích během skladovacích pokusů s využitím laboratorního denzitometru Densi-la-meter® II. Na základě uskutečněných experimentů bylo konstatováno, že se zvyšující se koncentrací chitosanu docházelo k redukci růstů testovaných bakterií, a že chitosan vůči nim vykazoval bakteriostatický účinek. Získané výsledky mohou být využity pro cílenou eliminaci nežádoucích bakterií *Asaia lannensis* s využitím potenciálu chitosanu.

Klíčová slova: *Asaia lannensis, nežádoucí bakterie, tolerance, chitosan*

SUMMARY

Although non-alcoholic drinks are safe products, undesirable microbial contamination can occur during their production, storage or distribution, with subsequent spoilage and potential health problems for consumers. Acid-tolerant acetic acid bacteria are often involved in the contamination of beverages. For example, bacteria of the species *Asaia lannensis* and *Asaia bogorensis* have the status of potentially pathogenic bacteria. Effective ways to eliminate them include, among other things, the use of the natural antibacterial active substance chitosan. The aim of this work is to determine the tolerance of *Asaia lannensis* bacteria to chitosan in model Sabouraud broths using the RTS-8 laboratory bioreactor and also in model syrups /sugar solutions during storage experiments using the laboratory densitometer Densi-la-meter® II. Based on the experiments carried out it was stated that the growths of the tested bacteria were reduced as the concentrations of chitosan increased, and that chitosan showed a bacteriostatic effect against them. Obtained results can be used for the targeted elimination of undesirable *Asaia lannensis* bacteria using the potential of chitosan.

Keywords: *Asaia lannensis, undesirable bacteria, tolerance, chitosan*

ÚVOD

Přestože nealkoholické nápoje patří mezi bezpečné výrobky, během jejich výroby, skladování nebo distribuce může docházet k nežádoucí mikrobiální kontaminaci s následným kažením, a i případným vznikem zdravotních problémů u konzumentů. Proto je zajištění jejich jakosti a mikrobiologické bezpečnosti věnována pozornost. Na kontaminaci nealkoholických nápojů se často podílejí, mimo jiné, i acidotolerantní octové bakterie[1]. K těmto bakteriím patří například i bakterie druhů *Asaia lannensis a Asaia bogorensis*, které mají statut potenciálně patogenních bakterií[2]. Účinnou cestou jejich eliminace se nabízí například použití přírodní antibakteriálně aktivní látky chitosanu. Chitosan vykazuje účinek vůči gramnegativním i grampozitivním bakteriím, je účinný v prostředí o pH nižším než 6,3, je biodegradabilní a vykazuje nízkou toxicitu[3]. Využívá se v potravinářství, biomedicíně, ve farmacii, a také V environmentálních oblastech[4]. Cílem práce je zjistit toleranci bakterií *A. lannensis* k chitosanu v modelových Sabouraudových bujónech během déledobých kultivací S využitím laboratorního bioreaktoru RTS-8, a také v modelových sirupech/cukerných roztocích během skladovacích pokusů s využitím laboratorního denzitometru Densi-la-meter® II.

MATERIÁL A METODY

Použité bakteriální kmeny

Bylo použito 8 bakteriálních kmenů *A. lannensis*; šlo o jeden sbírkový kmen *A. lannensis* BCC 15734 a 7 izolátů *A. lannensis* (3, 8, 9, 10, 11, 12, 15A). Po předchozích izolacích bakterií z průmyslově vyrobených, nealkoholických, ochucených a neochucených, nápojů byly tyto identifikovány na úroveň druhu s využitím sekvenování genu pro 16S rRNA (Středisko sekvenování DNA, MBÚ, AV ČR, v. v. i., CZE). Kmeny byly uloženy do Sbírky mikroorganismů Ústavu konzervace potravin (VŠCHT Praha) a jsou specifikovány v tabulce 1.

Tabulka 1: Použité bakteriální kmeny

Bakteriální kmen	Původ kmene
Asaia lannensis BCC 15734	Květy subtropické rostliny *Lycoris radiata* (THA)
Asaia lannensis 3	Nealkoholický nápoj: bez specifikace (CZE)
Asaia lannensis 8	Nealkoholický nápoj: voda bez příchutě (CZE)
Asaia lannensis 9	Nealkoholický nápoj: voda bez příchutě (CZE)
Asaia lannensis 10	Nealkoholický nápoj: nápoj s příchutí zeleného čaje (CZE)
Asaia lannensis 11	Nealkoholický nápoj: voda s příchutí maliny (CZE)
Asaia lannensis 12	Nealkoholický nápoj: nápoj s příchutí zeleného čaje (CZE)
Asaia lannensis 15A	Nealkoholický nápoj: voda s příchutí maliny (CZE)

BCC… BIOTEC Culture Collection, the National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC) (THA).

Kultivace testovaných bakterií

Bakterie *A. lannensis* byly kultivovány v Sabouraudově bujónu se 4,0 hm. % glukózy (Merck KGaA, DEU), který byl zaočkován (inokulum 1,0 obj. %) konkrétními suspenzemi

buněk. Bakterie byly aerobně kultivovány při teplotě 25 °C po dobu 48 h a následně použity k experimentům nebo uchovávány v chladničce při teplotě 4 °C. Bakterie byly přeočkovávány (inokulum 1,0 obj. %) jedenkrát týdně do sterilního Sabouraudova bujónu (objem 5,0 ml).

Stanovení počtů testovaných bakterií

Pro stanovení počtů bakterií *A. lannensis* byla použita plotnová[5]. Tomuto stanovení předcházely kultivace bakterií v Sabouraudově bujónu (viz odstavec výše). Následovaly aerobní kultivace bakterií na površích Sabouraudova agaru se 4,0 hm. % glukózy (Merck KGaA, DEU) (inokulum 100 µl, technika roztěru) při teplotě 25 °C po dobu 72 h. Poté byly spočítány narostlé kolonie a vypočítány počty bakterií ($KTJ \cdot ml^{-1}$).

Zjištění tolerance testovaných bakterií k chitosanu I – déledobé kultivace (bioreaktor)

Byla zjišťována tolerance bakterií *A. lannensis k* chitosanu (0–1,5 hm. %) (Porta s.r.o., CZE), s využitím spektrofotometrické metody (λ_{600}) na laboratorním bioreaktoru RTS-8 (BioSan, LVA), během aerobních kultivací v modelových Sabouraudových bujónech (A–F) při teplotě 25 °C během 72 h. Byla měřena optická hustota suspenzí buněk v reálném čase (h).

Zjištění tolerance testovaných bakterií k chitosanu II – skladovací pokusy (denzitometr)

Byla zjišťována tolerance bakterií vybraného kmene *A. lannensis* BCC 15734 k chitosanu (0,2 a 0,4 hm. %) (Porta s.r.o., CZE), s využitím metody optické absorbance (λ_{600}) realizované na laboratorním denzitometru Densi-la-meter® II (Erba Lachema s.r.o., CZE), během skladovacích pokusů při teplotě 25 °C po dobu 35 dnů, v modelových sirupech/ cukerných roztocích (a–g) cíleně jimi zaočkovaných (inokulum 1,0 obj. %). Byla měřena optická absorbance suspenzí buněk (McFarland) na čase (dny).

VÝSLEDKY

Růstová aktivita bakterií *Asaia lannensis*

U 8 kmenů *A. lannensis* (BCC 15734, 3, 8, 9, 10, 11, 12, 15A) byla zjištěna růstová aktivita v kvantitativním profilu ($KTJ \cdot ml^{-1}$). Výsledky jsou uvedené v tabulce 2 a představují průměr ze dvou uskutečněných stanovení, provedených paralelně na dvou Petriho miskách.

Tabulka 2: Růstová aktivita bakterií *Asaia lannensis* – kvantitativní výsledky; aerobní kultivace bakterií na Sabouraudově agaru při teplotě 25 °C po dobu 72 h

Bakteriální kmen	Počet bakterií ($KTJ \cdot ml^{-1}$)
Asaia lannensis BCC 15734	$7{,}0 \cdot 10^7$
Asaia lannensis 3	$4{,}6 \cdot 10^8$
Asaia lannensis 8	$3{,}4 \cdot 10^8$
Asaia lannensis 9	$7{,}2 \cdot 10^7$
Asaia lannensis 10	$3{,}3 \cdot 10^8$
Asaia lannensis 11	$3{,}9 \cdot 10^8$
Asaia lannensis 12	$2{,}6 \cdot 10^7$
Asaia lannensis 15A	$8{,}9 \cdot 10^7$

Z tabulky 2 vyplývá, že testované bakterie vykazovaly velmi dobrou růstovou aktivitu, a že na Sabouraudově agaru dosahovaly počtů v rozmezí řádů 10^7–10^8 KTJ·ml^{-1}. Nejvyšších počtů dosáhly bakterie čtyř kmenů *A. lannensis* (3, 8, 10, 11), a to v řádu 10^8 KTJ·ml^{-1}.

Tolerance bakterií *Asaia lannensis* k chitosanu v modelových Sabouraudových bujónech zjišťovaná během déledobých kultivací (bioreaktor)

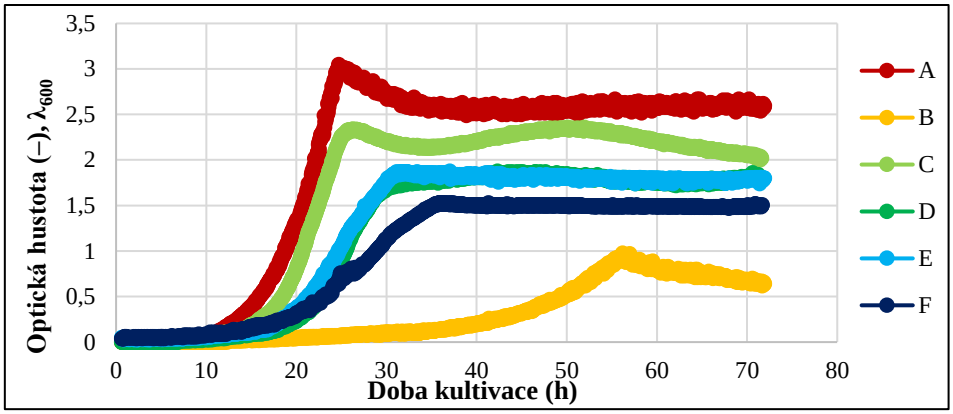
Kvalitativní výsledky tolerance bakterií 8 kmenů *A. lannensis* k chitosanu (0–1,5 hm. %) v modelových Sabouraudových bujónech (A–F) jsou uvedeny v tabulce 3. Kvantitativní výsledky tolerance bakterií vybraného sbírkového kmene *A. lannensis* BCC 15734 k (0–1,5 hm. %) v modelových Sabouraudových bujónech (A–F) jsou uvedeny na obrázku 1. Výsledky představují průměr ze třech uskutečněných experimentů.

Tabulka 3: Tolerance bakterií *Asaia lannensis* k chitosanu (Porta s.r.o., CZE) s využitím laboratorního bioreaktoru RTS-8 (BioSan, LVA); aerobní kultivace bakterií v modelových Sabouraudových bujónech (A–F) s různými přídavky chitosanu (0–1,5 hm. %) při teplotě 25 °C během 72 h

Bakteriální kmen	Tolerance bakterií k chitosanu (hm. %)					
	0 (A)	0 (B)	0,2 (C)	0,5 (D)	1,0 (E)	1,5 (F)
A. l. BCC 15734	++ (7,0)	+ (12,0)	++ (8,0)	+ (9,0)	+ (9,0)	+ (10,0)
Asaia lannensis 3	++ (6,0)	+ (12,0)	++ (7,0)	++ (8,0)	++ (8,0)	+ (9,0)
Asaia lannensis 8	++ (8,0)	+ (14,0)	+ (9,0)	+ (10,0)	+ (10,0)	+ (11,0)
Asaia lannensis 9	++ (8,0)	+ (17,0)	+ (9,0)	+ (10,0)	+ (10,0)	+ (10,0)
Asaia lannensis 10	++ (7,0)	+ (12,0)	++ (8,0)	+ (9,0)	+ (9,0)	+ (10,0)
Asaia lannensis 11	++ (6,0)	+ (12,0)	++ (7,0)	++ (7,0)	++ (8,0)	+ (9,0)
Asaia lannensis 12	++ (7,0)	+ (10,0)	++ (8,0)	+ (9,0)	+ (9,0)	+ (10,0)
Asaia lannensis 15A	++ (7,0)	+ (9,0)	++ (8,0)	+ (9,0)	+ (9,0)	+ (10,0)

++… střední nárůst bakterií (středně dlouhá lag fáze: 0–8 h, střední hodnoty optických hustot OD) +… nízký nárůst bakterií (dlouhá lag fáze: 9–72 h, nízké hodnoty optických hustot OD). Číselné hodnoty v závorkách představují zjištěné lag fáze bakterií (h). A–F… modelové Sabouraudovy bujóny (složení: viz legenda obrázku 1).

Z tabulky 3 vyplývá, že bakterie všech kmenů *A. lannensis* tolerovaly chitosan o všech koncentracích (0,2; 0,5; 1,0 a 1,5 hm. %) v modelových Sabouraudových bujónech (A–F) a vykazovaly střední nárůst (++) nebo nízký nárůst (+). V kontrolním bujónu K0 (A), bez chitosanu a kyseliny citronové, vykazovaly bakterie všech kmenů střední nárůst (++) a jejich lag fáze se pohybovaly v rozmezí 6–8 h. V kontrolním bujónu K1 (B), bez chitosanu a s kyselinou citronovou (1,25 hm. %), vykazovaly bakterie všech kmenů nízký nárůst (+) a jejich lag fáze se pohybovaly v rozmezí 9–12 h. Se zvyšující se koncentrací chitosanu (0,2–1,5 hm. %) (C–F) docházelo u většiny bakterií ke snížení jejich nárůstu z (++) na (+). V modelovém bujónu s chitosanem (1,5 hm. %) a kyselinu citrónovou (4,00 hm. %) (F) vykazovaly bakterie všech kmenů nízký nárůst (+) s lag fázemi v rozmezí 9–11 h.



Obrázek 1: Tolerance bakterií Asaia lannensis BCC 15734 k chitosanu (0–1,5 hm. %) (Porta s.r.o., CZE); aerobní kultivace v modelových Sabouraudových bujónech s chitosanem (A–F) při 25 °C během 72 h

A) bujón kontrolní (K0): chitosan (0 hm. %) + kyselina citronová (0 hm. %)
B) bujón kontrolní (K1): chitosan (0 hm. %) + kyselina citronová (1,25 hm. %)
C) bujón s chitosanem (0,20 hm. %): chitosan (0,20 hm. %) + kyselina citronová (1,25 hm. %)
D) bujón s chitosanem (0,50 hm. %): chitosan (0,50 hm. %) + kyselina citronová (3,00 hm. %)
E) bujón s chitosanem (1,00 hm. %): chitosan (1,00 hm. %) + kyselina citronová (3,50 hm. %)
F) bujón s chitosanem (1,50 hm. %): chitosan (1,50 hm. %) + kyselina citronová (4,00 hm. %).

Z obrázku 1 je patrné, že bakterie kmene *A. lannensis* BCC 15734 tolerovaly chitosan o všech koncentracích (0,2; 0,5, 1,0 a 1,5 hm. %) (C–F) v modelových Sabouraudových bujónech (A–F) (pH 2,75). Se zvyšující se koncentrací chitosanu docházelo k redukci růstu bakterií a nejvyššího účinku bylo dosaženo při použití chitosanu o koncentraci 1,50 hm. %. Účinek chitosanu byl bakteriostatický. Mezi koncentracemi chitosanu (0,5 a 1,0 hm. %) (D, E) nebyly zjištěny rozdíly, což bude předmětem budoucího zkoumání. Přídavek samotné kyseliny citrónové (1,25 hm. %) (B) vykazoval významný redukční účinek.

Tolerance vybraného kmene *Asaia lannensis* BCC 15734 k chitosanu v modelových sirupech/cukerných roztocích zjišťovaná během skladovacích pokusů (denzitometr)

Výsledky tolerance bakterií vybraného sbírkového kmene *A. lannensis* BCC 15734 k chitosanu (0,2 a 0,4 hm. %) v modelových sirupech/cukerných roztocích (a–g) cíleně jimi zaočkovaných (inokulum 1,0 obj. %), během skladovacích pokusů při teplotě 25 °C po dobu 35 dnů, byly zhodnoceny. Bylo experimentováno s modelovými sirupy/cukernými roztoky (a–g), s příchutěmi jahod a malin, připravenými v laboratoři o složeních: a) sirupy originální, b) cukerné roztoky se sníženým obsahem sacharózy (na 50 hm. %), c) cukerné roztoky se sníženým obsahem sacharózy (na 50 hm. %) s chitosanem (0,2 hm. %), d) cukerné roztoky se sníženým obsahem sacharózy (na 50 hm. %) s chitosanem (0,4 hm. %), e) sirupy bez přidané sacharózy se sirupem s nízkým glykemickým indexem, f) sirupy bez přidané sacharózy se sirupem s nízkým glykemickým indexem a chitosanem (0,2 hm. %), g) sirupy bez přidané sacharózy se sirupem s nízkým glykemickým indexem a chitosanem (0,4 hm. %). Během skladovacích pokusů modelových sirupů/cukerných roztoků s příchutěmi jahod i malin vykazovaly nejvyšší bakteriální stabilitu tři sirupy: a), f), g). Podle Vyhlášky č. 248/2018 Sb. je jako sirup označován nápojový koncentrát obsahující více než 50 hm. % cukru[6].

ZÁVĚR

Bakterie 8 kmenů *A. lannensis* rostly dobře v Sabouraudově bujónu při teplotě 25 °C po dobu 48 h aerobně a na Sabouraudově agaru při teplotě 25 °C za dobu 72 h aerobních kultivací dosáhly počtů v rozmezí řádů 10^7–10^8KTJ·ml^{-1}. K tolerancím bakterií *A. lannensis k* chitosanu (0–1,5 hm. %) zjištěných na bioreaktoru RTS-8 bylo sděleno, že během aerobních kultivací bakterií v modelových Sabouraudových bujónech při teplotě 25 °C během 72 h docházelo k redukci růstu bakterií díky chitosanu se zvyšujícími se koncentracemi, a že chitosan vůči nim vykazoval bakteriostatický účinek. K tolerancím bakterií *A. lannensis k* chitosanu (0,2 a 0,4 hm. %) s využitím denzitometru Densi-la-meter® II bylo sděleno, že během aerobních skladovacích pokusů modelových sirupů/cukerných roztoků při teplotě 25 °C během 35 dnů vykazovaly nejvyšší bakteriální stabilitu: sirupy originální, sirupy bez přidané sacharózy s přídavkem sirupu s nízkým glykemickým indexem a chitosanem (0,2 hm. %), sirupy bez přidané sacharózy s přídavkem sirupu s nízkým glykemickým indexem a chitosanem (0,4 hm. %). Bakteriální stabilita modelových sirupů/cukerných roztoků s příchutí jahod i malin byla obdobná. Získané výsledky mohou být využity při výrobě nealkoholických nápojů při eliminaci nežádoucích octových bakterií *A. lannensis* s využitím potenciálu chitosanu.

PODĚKOVÁNÍ

Autoři příspěvku děkují Ing. Martinu Kuncovi (GeneProof a.s., CZE) za konzultace k bioreaktoru RTS-8 (BioSan, LVA). Tato práce byla podpořena Ministerstvem zemědělství, Národní agenturou pro zemědělský výzkum, projektem QK1710156 (2017−2021, MZE/QK), v programu QK – Program aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství na období 2017-2025 „ZEMĚ“.

LITERATURA

1. Silva M. M. N., Holanda V. L., Pereira K. S., Coelho M. A. Z. 2022. Microbiological contamination profile in soft drinks. *Archives of Microbiology*, 204, 194–203.
2. Antolak H., Jeleń H., Otlewska A., Kręgiel D. 2019. Volatile compounds associated with growth of *Asaia bogorensis* and *Asaia lannensis*-unusual spoilage bacteria of functional beverages. *Food Research International*, 121, 379–386.
3. Tyagi P., Mathew R., Opperman C., Jameel H., Gonzalez R., Lucia L., Hubbe M., Pal L. 2019. High-strength antibacterial chitosan-cellulose nanocrystal composite tissue paper. *Langmuir*, 35,104–112.
4. Cheah W. Y., Show P. L., Ng I. S., Lin G. Y., Chiu C. Y., Chang Y. K. 2019. Antibacterial aktivity of quaternized chitosan modified nanofiber membrane. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 569–577.
5. ČSN EN ISO 7218. 2008. *Mikrobiologie potravin a krmiv – Všeobecné požadavky a doporučení pro mikrobiologické zkoušení*, 68. Praha, Český normalizační institut.
6. Vyhláška č. 248/2018 Sb. 2024. *Vyhláška o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí. Zákony pro lidi – Sbírka zákonů 2010–2024*. [online] Dostupné z: https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2018-248/zneni-20181201 (staženo 19.01.2024).

P20

Citlivost *Gluconacetobacter* sp. a *Komagataeibacter* spp. k sanitačním prostředkům používaným v nápojářském průmyslu

Sensitivity of Gluconacetobacter sp. and Komagataeibacter spp. to sanitation agents used in the beverage industry

Eva Šviráková, Simona Sedláčková

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie,
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Bakterie rodu *Gluconacetobacter* a *Komagataeibacter*, řazené do skupiny octových bakterií, patří v průmyslu výroby nealkoholických nápojů k technologicky nežádoucím bakteriím negativně ovlivňujícím jejich senzorické vlastnosti. V současné době je problematice citlivosti nežádoucích bakterií k sanitačním prostředkům věnována zvýšená pozornost. Cílem práce je zjistit citlivost bakterií *Gluconacetobacter* sp. *a Komagataeibacter* spp. k 5 sanitačním prostředkům používaným při průmyslové výrobě nealkoholických nápojů s využitím agarové difúzní metody. Bylo zjištěno, že se minimální inhibiční koncentrace konkrétní účinné látky/ směsi látek obsažených v testovaných sanitačních prostředcích pohybovaly pod intervalem doporučených pracovních koncentrací sanitačních prostředků běžně používaný v nápojářském průmyslu. Nejúčinnějším sanitačním prostředkem pro eliminaci glukonacetobakterií a komagataeibakterií byl zjištěn dezinfekční tekutý prostředek s účinnou látkou kyselinou peroctovou. Minimální inhibiční koncentrace kyseliny peroctové se pro bakterie testovacích kmenů pohybovaly v rozmezí 0,12–0,50 obj. %, přičemž se kyselina peroctová používá v průmyslové praxi o pracovních koncentracích v rozmezí 0,03–1,80 obj. %. Zjištěné výsledky mohou být využity při průmyslové výrobě nealkoholických nápojů při eliminaci bakterií rodu *Gluconacetobacter* a *Komagataeibacter s* využitím účinných sanitačních prostředků, zejména kyseliny peroctové.

Klíčová slova: *Gluconacetobacter, Komagataeibacter, citlivost, sanitační prostředky, nápojářský průmysl*

SUMMARY

Bacteria of the genera *Gluconacetobacter* and *Komagataeibacter*, classified in the group of acetic acid bacteria, belong to the technologically undesirable bacteria negatively affecting their sensory properties in the non-alcoholic beverage industry. Currently, increased attention is paid to the issue of the sensitivity of undesirable bacteria to sanitizing agents. The aim of the work is to determine the sensitivity of the bacteria *Gluconacetobacter* sp. and *Komagataeibacter* spp. to five sanitizing agents used in the industrial production of non-alcoholic drinks using the agar diffusion method. It was found that the minimum inhibitory

concentration of a specific active substance/mixture of substances contained in the tested sanitizing agents was below the interval of recommended working concentrations of sanitizing agents commonly used in the beverage industry. The most effective sanitizing agent for the elimination of gluconacetobacteria and komagataeibacteria was found to be a liquid disinfectant with the active ingredient peracetic acid. The detected minimum inhibitory concentrations of peracetic acid for the bacteria of the test strains were in the range of 0.12–0.50 v/v %, while peracetic acid is used in industrial practice at working concentrations in the range of 0.03–1.80 v/v %. The obtained results can be used in the industrial production of non-alcoholic drinks in the elimination of bacteria of genera *Gluconacetobacter* and *Komagataeibacter* using effective sanitizing agents, especially peracetic acid.

Keywords: *Gluconacetobacter, Komagataeibacter, sensitivity, sanitation agents, beverage industry*

ÚVOD

Bakterie rodu *Gluconacetobacter* a *Komagataeibacter* mají v průmyslu výroby nealkoholických nápojů statut technologicky nežádoucích bakterií. Důsledkem jejich kontaminace dochází u nápojů ke/k vzniku různých senzorických vad (např. kyselé chuti, zákalu, sedimentu, produkci plynu)[1]. Pro minimalizaci případných výrobních selhání, a pro celkové zvýšení bezpečnosti a kvality nápojů, je v nápojářské průmyslové praxi aplikován systém HACCP[2], jehož součástí i sanitační proces realizovaný v uzavřeném okruhu (systém CIP), skládající se z kroků čistění a dezinfekce. Z podstaty definice, dezinfekce zahrnuje procesy spojené s eliminací většiny přítomných mikroorganismů, ale ne nutně bakteriálních spor, na površích i uvnitř zařízení s tím, že zbývající životaschopné mikroorganismy nejsou schopny ovlivnit mikrobiologickou kvalitu nápojů přicházejících do styku s dezinfikovanými částmi[3]. Citlivost bakterií k sanitačním prostředkům používaným v nápojářském průmyslu je v současné době často skloňovaným tématem. Cílem této práce je zjistit citlivost bakterií *Gluconacetobacter* sp. a *Komagataeibacter* spp. k různým sanitačním prostředkům používaným při průmyslové výrobě nealkoholických nápojů, a to s využitím agarové difúzní metody v laboratorních podmínkách.

MATERIÁL A METODY

Použité bakteriální kmeny

K experimentům byly použity bakterie třech kmenů octových bakterií, a to: *Gluconacetobacter liquefaciens* CCM 3621^T, *Komagataeibacter hansenii* CCM 1808 a *Komagataeibacter xylinus* CCM 3611^T (bakterie rodu *Komataeibacter* byly dříve řazeny do rodu *Gluconacetobacter*). Bakterie byly uloženy do Sbírky mikroorganismů Ústavu konzervace potravin (VŠCHT Praha, CZE). Použité bakteriální kmeny a jejich původ jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1: Použité bakteriální kmeny

Bakteriální kmen	Původ kmene
Gluconacetobacter liquefaciens CCM 3621^T	Sušené kaki (JPN)
Komagataeibacter hansenii CCM 1808	Ocet (ISR)
Komagataeibacter xylinus CCM 3611^T	Paříž (FRN)

CCM…Česká sbírka mikroorganismů (the Czech Collection of Microorganisms), Přírodovědecká fakulta Masarykovy university (Brno, CZE).

Kultivace bakterií

Bakterie *Gluconacetobacter* sp. a *Komagataeibacter* spp. byly kultivovány v Sabouraudově bujónu se 4,0 hm. % glukózy (Merck KGaA, DEU), který byl zaočkován (inokulum 1,0 obj. %) konkrétními suspenzemi buněk. Bakterie byly aerobně kultivovány při teplotě 30 °C (což platilo pro bakterie: *Gla. liquefaciens a Komag. xylinus*) nebo 25 °C (což platilo pro bakterie *Komag. hansenii*) po dobu 48 h a následně použity k experimentům nebo uchovávány v chladničce při teplotě 4 °C. Bakterie byly přeočkovávány (inokulum 1,0 obj. %) jedenkrát týdně do sterilního Sabouraudova bujónu (objem 5,0 ml).

Použité sanitační prostředky

Pro experimenty bylo použito 5 sanitačních prostředků, z toho byly čtyři čisticí a jeden dezinfekční, o různých účinných látkách/směsích látek a koncentracích. Od každého prostředku byly připraveny pracovní koncentrace ze zásobních roztoků (2,0 hm. %), případně z koncentrovaných roztoků. Sanitační prostředky byly poskytnuty jednou českou společností, která je používá při průmyslové výrobě nealkoholických nápojů v systému CIP.

Stanovení citlivosti bakterií k sanitačním prostředkům

Stanovení citlivosti bakterií testovacích kmenů *Gluconacetobacter* sp. a *Komagataeibacter* spp. k 5 sanitačním prostředkům bylo realizováno v systému Petriho ploten (hranatých a = 24,5 cm) s využitím agarové difúzní zkoušky, s výsledkem stanovení minimální inhibiční koncentrace účinné látky/směsi účinných látek obsažené/obsažených v testovaných sanitačních prostředcích (MIC_{kul}).

VÝSLEDKY

Citlivost bakterií *Gluconacetobacter a Komagataeibacter k* sanitačním prostředkům

Kvantitativní výsledky citlivosti bakterií testovacích kmenů *Gla. liquefaciens* CCM 3621^T, *Komag. hansenii* CCM 1808 a *Komag. xylinus* CCM 3611^T k průmyslovým sanitačním prostředkům, vyjádřené *ve* formě minimálních inhibičních koncentrací konkrétních účinných látek/směsí látek obsažených v testovaných sanitačních prostředcích (MIC_{kul}), jsou uvedeny v tabulkách 2–4. Výsledky měření představují průměr ze třech uskutečněných experimentů.

Tabulka 2: Minimální inhibiční koncentrace konkrétních účinných látek (MIC_{kul}), obsažených v testovaných sanitačních prostředcích, pro bakterie testovacího kmene *Gluconacetobacter liquefaciens* CCM 3621^T

Testovací kmen *Gluconacetobacter liquefaciens* CCM 3621^T			
Sanitační prostředek	**Koncentrace sanitačního prostředku (obj. %)**	**Inhibiční zóna růstu (+/–)**	**MIC_{kul} (obj. %)**
Čisticí zásaditý kapalný prostředek (ZP)	0,03	–	0,25
	0,06	–	
	0,12	–	
	0,25	+	
	0,50	+	
Čisticí kyselý kapalný prostředek (KP)	0,06	–	–
	0,12	–	
	0,25	–	
	0,50	–	
	1,00	–	
Čisticí zásaditý gelový prostředek (GP)	0,50	–	2,00
	1,00	–	
	2,00	+	
	4,00	+	
	8,00	+	
Čisticí kyselý pěnový prostředek (PN)	0,03	–	0,50
	0,06	–	
	0,12	–	
	0,25	–	
	0,50	+	
Dezinfekční kyselý kapalný prostředek (DP)	0,03	–	0,12
	0,06	–	
	0,12	+	
	0,25	+	
	0,50	+	

+… vizuálně detekovatelná inhibiční zóna růstu bakterií, –… žádná tvorba inhibiční zóny, kul… konkrétní účinná látka obsažená v sanitačním prostředku.

Tabulka 3: Minimální inhibiční koncentrace konkrétních účinných látek (MIC_{kul}), obsažených v testovaných sanitačních prostředcích, pro bakterie testovacího kmene *Komagataeibacter hansenii* CCM 1808

	Testovací kmen *Komagataeibacter hansenii* CCM 1808		
Sanitační prostředek	**Koncentrace sanitačního prostředku (obj. %)**	**Inhibiční zóna růstu (+/–)**	**MIC_{kul} (obj. %)**
Čisticí zásaditý kapalný prostředek (ZP)	0,03	–	0,25
	0,06	–	
	0,12	–	
	0,25	+	
	0,50	+	
Čisticí kyselý kapalný prostředek (KP)	0,06	–	–
	0,12	–	
	0,25	–	
	0,50	–	
	1,00	–	
Čisticí zásaditý gelový prostředek (GP)	0,50	–	4,00
	1,00	–	
	2,00	–	
	4,00	+	
	8,00	+	
Čisticí kyselý pěnový prostředek (PN)	0,03	–	0,50
	0,06	–	
	0,12	–	
	0,25	–	
	0,50	+	
Dezinfekční kyselý kapalný prostředek (DP)	0,03	–	0,50
	0,06	–	
	0,12	–	
	0,25	–	
	0,50	+	

+… vizuálně detekovatelná inhibiční zóna růstu bakterií, –… žádná tvorba inhibiční zóny, kul… konkrétní účinná látka obsažená v sanitačním prostředku.

Tabulka 4: Minimální inhibiční koncentrace konkrétních účinných látek (MIC_{kul}), obsažených v testovaných sanitačních prostředcích, pro bakterie testovacího kmene *Komagataeibacter xylinus* CCM 3611^T

Testovací kmen *Komagataeibacter xylinus* CCM 3611^T			
Sanitační prostředek	**Koncentrace sanitačního prostředku (obj. %)**	**Inhibiční zóna růstu (+/–)**	**MIC_{kul} (obj. %)**
Čisticí zásaditý kapalný prostředek (ZP)	0,03	–	–
	0,06	–	
	0,12	–	
	0,25	–	
	0,50	–	
Čisticí kyselý kapalný prostředek (KP)	0,06	–	–
	0,12	–	
	0,25	–	
	0,50	–	
	1,00	–	
Čisticí zásaditý gelový prostředek (GP)	0,50	–	2,00
	1,00	–	
	2,00	+	
	4,00	+	
	8,00	+	
Čisticí kyselý pěnový prostředek (PN)	0,03	–	0,25
	0,06	–	
	0,12	–	
	0,25	+	
	0,50	+	
Dezinfekční kyselý kapalný prostředek (DP)	0,03	–	0,12
	0,06	–	
	0,12	+	
	0,25	+	
	0,50	+	

+… vizuálně detekovatelná inhibiční zóna růstu bakterií, –… žádná tvorba inhibiční zóny, kul… konkrétní účinná látka obsažená v sanitačním prostředku.

Citlivost bakterií *k* čisticímu zásaditému prostředku (ZP)

Pro testovací bakterie byly zjištěny následující minimální inhibiční koncentrace čisticího zásaditého prostředku (MIC_{ZP}): MIC_{ZP} pro bakterie kmenů *Gla. liquefaciens* CCM 3621 *a Komag. hansenii* CCM 1808 byly shodně 0,25 obj. %, MIC_{ZP} pro bakterie kmene *Komag. xylinus* CCM 3611^T nebyla zjištěna, jelikož bakterie k tomu prostředku nebyly citlivé. To znamená, že v tomto případě nedošlo k tvorbě inhibičních zón růstu ani u jedné z testovaných koncentrací (0,03–0,50 obj. %). Výrobcem doporučené rozmezí pracovních koncentrací tohoto zásaditého prostředku pro použití v nápojářském průmyslu bylo 1,00–3,40 obj. %. Zásaditý prostředek, který obsahoval účinnou látku hydroxid sodný, měl schopnost účinně redukčně/inhibičně působit na testovací bakterie. Z literatury je známo, že princip působení hydroxidu sodného je založen na schopnosti degradovat proteiny

bakteriálních buněk působením hydroxylových iontů. Hydroxid sodný působí ve vyšších koncentracích baktericidně, což však může mít negativní dopad na vznik koroze či vysrážení iontů ze středně tvrdé až tvrdé vody. Zlepšení účinku čisticích zásaditých prostředků může být dosaženo přidáním chloru, který účinněji degraduje proteiny přítomných bakterií[4].

Citlivost bakterií k čisticímu kyselému prostředku (KP)

Bylo konstatováno, že pro testovací glukonacetobakterie a komagataeibakterie nebyly zjištěny žádné minimální inhibiční koncentrace čisticího kyselého prostředku (MIC_{KP}) používaného v rozmezí koncentrací 0,06–1,00 obj. %. Kyselý prostředek, který obsahoval účinnou látku kyselinou dusičnou, nepůsobil na testovací bakterie redukčně ani inhibičně. Výrobcem doporučené rozmezí pracovních koncentrací tohoto kyselého prostředku pro použití v nápojářském průmyslu bylo 0,40–3,10 obj. %. Kyselé čisticí prostředky vykazují relativně nízký detergenční účinek, a proto se využívají spíše během periodického čistění (během takzvaného „kyselinování" prováděného přibližně 1× týdně či podle potřeby) pro solubilizaci inkrustů minerálních látek ve formě vodního/jiného kamene, a také pro rozklad bílkovin. V potravinářském/nápojářském průmyslu nejsou čisticí kyselé prostředky využívány tak četně, ve srovnání např. se zásaditými prostředky[4].

Citlivost bakterií k čisticímu zásaditému gelu (GP)

Pro testovací bakterie byly zjištěny minimální inhibiční koncentrace čisticího zásaditého gelového prostředku (MIC_{GP}) s tímto výsledkem: MIC_{GP} pro bakterie kmene *Gla. liquefaciens* CCM 3621^T byla 2,00 obj. %, MIC_{GP} pro bakterie kmenů *Komag. hansenii* CCM 1808 *a Komag. xylinus* CCM 3611^T byly shodně 4,00 obj. %. Prostředek byl použit v rozmezí koncentrací 0,50–8,00 obj. %. Výrobcem doporučené rozmezí pracovních koncentrací tohoto zásaditého gelového prostředku pro použití v nápojářském průmyslu bylo 5,00–10,00 obj. %. Zásaditý gel, jehož účinnou látkou byl propan-2-ol, se ukázal být účinným inhibičním prostředkem. Obecně patří alkoholy mezi velmi účinné baktericidní a virucidní látky, a to zejména proti gramnegativním bakteriím[5].

Citlivost bakterií k čisticí kyselé pěně (PN)

Pro testovací bakterie byly zjištěny následující minimální inhibiční koncentrace čisticího kyselého pěnového prostředku (MIC_{PN}) pro testovací bakterie: MIC_{PN} pro bakterie kmenů *Gla. liquefaciens* CCM 3621^T a *Komag. hansenii* CCM 1808 byly shodně 0,50 obj., MIC_{PN} pro bakterie kmene *Komag. xylinus* CCM 3611^T byla 0,25 obj. %. Prostředek byl použit v rozmezí koncentrací 0,03–0,50 obj. %. Výrobcem doporučené rozmezí pracovních koncentrací tohoto kyselého pěnového prostředku pro použití v nápojářském průmyslu bylo 2,00–10,00 obj. %. Tato kyselá pěna, jejíž účinnou látkou byla kyselina glykolová, vykazuje podobné vlastnosti např. jako EDTA nebo kyselina citronová. Tyto látky jsou v sanitačních programech používány především k tomu, aby zabránily vysrážení iontů tím, že s nimi vytvoří ve vodě rozpustný komplex[5].

Citlivost bakterií k dezinfekčnímu prostředku (DP)

Pro testovací bakterie byly zjištěny tyto minimální inhibiční koncentrace dezinfekčního prostředku (MIC_{DP}): MIC_{DP} pro bakterie kmenů *Gla. liquefaciens* CCM 3621^T a *Komag. xylinus* CCM 3611^T byly shodně 0,12 obj. %, MIC_{DP} pro bakterie kmene *Komag. hansenii* CCM 1808 byla 0,50 obj. %. Prostředek byl použit v rozmezí koncentrací 0,03–0,50 obj. %. Výrobcem doporučené rozmezí pracovních koncentrací tohoto dezinfekčního prostředku pro použití v nápojářském průmyslu bylo 0,03–1,80 obj. %. Tento dezinfekční prostředek, jehož účinnou látkou byla kyselinou peroctová, vykazoval vůči bakteriím vysoký inhibiční účinek. Z literatury je známo, že kyselina peroctová disponuje rychlým účinkem a dokáže inhibovat široké spektrum bakterií. Antibakteriální účinek kyseliny peroctové spočívá v degradaci bílkovin, které jsou součástí buněčných membrán bakterií[6].

ZÁVĚR

Na základě uskutečněných experimentů bylo konstatováno, že nejúčinnějším sanitačním prostředkem pro eliminaci bakterií *Gluconacetobacter* sp. a *Komagataeibacter* spp. byl dezinfekční tekutý prostředek s účinnou látkou kyselinou peroctovou. Zjištěné minimální inhibiční koncentrace kyseliny peroctové se pro testovací bakterie pohybovaly v rozmezí 0,12–0,50 obj. %, přičemž se kyselina peroctová v průmyslové praxi používá o pracovních koncentracích v rozmezí 0,03–1,80 obj. %. Sanitační prostředky, určené pro použití při průmyslové výrobě nealkoholických nápojů, jsou jejich výrobci doporučovány k používání často ve vyšších koncentracích, než které byly během našich experimentů testovány. Důvodem použití vyšších koncentrací sanitačních prostředků v nápojářské průmyslové praxi je především nutnost zabezpečit požadované a široké inhibiční mikrobiální spektrum, v souvislosti s potenciálním výskytem zdravotně nebezpečných a technologicky nežádoucích mikroorganismů, včetně bakterií, a to navzdory zvýšeným ekonomickým nákladům a případně méně ekologickému přístupu. Složení a aplikace průmyslových sanitačních prostředků jsou dále odvislá od pokud možno co nejmenšího poškozování technologického zařízení (např. eliminací koroze či jinými způsoby). Výsledky námi provedených experimentů mohou být využitelné mimo jiné i pro optimalizaci finančních nákladů určených na sanitaci výrobního zařízení, konkrétně při výrobě nealkoholických nápojů na různých bázích.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce byla podpořena Ministerstvem zemědělství, Národní agenturou pro zemědělský výzkum, projektem QK1710156 (2017−2021, MZE/QK), v programu QK – Program aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství na období 2017–2025 „ZEMĚ“.

LITERATURA

1. Shankar V., Mahboob S., Al-Ghanim K. A., Ahmed Z., Al-Mulhm N., Govindarajan M. 2021. A review on microbial degradation of drinks and infectious diseases: a perspective of human well-being and capabilities. *Journal of King Saud University Science*, 33 (2), 1018–3647.
2. Lemos Junior W. J. F., Reis L. P., De Oliveira V. S., Lopes L. O., Pereira K. S. 2019. Reuse of refillable PET packaging: approaches to safety and quality in soft drink processing. *Food Control*, 100, 329–334.

3. Forsythe S. J., Hayes P. R. 2020. Cleaning and disinfection: methods. In: *Food Hygiene, Microbiology and HACCP*, 3rd ed. Springer Science+Business Media New York, NY, USA.
4. Berk Z. 2018. Cleaning, disinfection and sanitation. In: *Food Process Engineering and Technology*, 3rd ed., chapter 28, 643–656. Academic Press, MA, USA.
5. Holah J. T. 2014. Cleaning and disinfection practices in food processing. In: *Hygiene in Food Processing, Princiles and Practices* (H. L. M. Lelieveld, J. T. Holah, D. Napper, eds.), 2nd ed., chapter 9, 259–304. Woodhead Publishing, GBR.
6. Kakurinov V. 2014. Food safety assurance systems: cleaning and disinfection. In: *Encyclopedia of Food Safety*, volume 4, 211–225. Elsevier, NLD.

P21

Vliv sacharidů na stabilitu barvy vybraných anthokyanů

Effect of carbohydrates on colour stability of selected anthocyanins

Adam Tobolka, Aleš Rajchl

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Anthokyany jsou přírodní pigmenty, které se nacházejí v rostlinách a jsou zodpovědné za červenou, fialovou a modrou barvu v různých druzích ovoce, zeleniny a květin. Tyto sloučeniny mají antioxidační vlastnosti, které jsou spojeny s potenciálními zdravotními výhodami. Antokyany nejsou obecně příliš stabilní sloučeniny a podléhají rychlým degradačním reakcím působením vyšších teplot, pH aj. Sacharidy mohou interagovat s anthokyany prostřednictvím různých mechanismů a tím mohou degredaci anthokyanů v nepříznivých podmínkách zpomalit. V rámci prezentovaného experimentu byly připraveny modelové vzorky standardů anthokyanů kyanidin-3-galaktosidu a kyanidin-3-rutinosidu v různých cukerných roztocích (glukosa, sacharosa, fruktosa, fruktosa/glukosa) a uloženy při 20, 35 a 50°C po dobu 4 týdnů v rámci zrychleného skladovacího testu. Degradace červené barvy a změna celkové barvy standardů anthokyanů byla stanovena pomocí spektrofotomentru v barevném prostoru CIE L*a*b*. Celková změna barvy (ΔE) anthokyanů se pohybovala v intervalu od 2 do 10 jednotek. Celková změna barvy a úbytek červené barvy (a*) anthokyanů se projevil nejvíce a nejrychleji při 50 °C. Cukerný roztok s největším potenciálem zpomalovat degradaci anthokyanů při skladování ve vyšší teplotě vykazoval roztok fruktosy. Kyanidin-3-rutinosid byl během skladování a retence červené barvy stabilnější než kyanidin-3-galaktosid, což mohlo být způsobeno navázaným disacharidem rutinosou, která měla větší protektivní účinek než monosacharid galaktosa.

Klíčová slova: *anthokyany, stabilita, změna barva, zrychlený skladovací test, sacharidy*

SUMMARY

Anthocyanins are natural pigments found in plants and are responsible for the red, purple and blue colours in various fruits, vegetables and flowers. These compounds have antioxidant properties that are associated with potential health benefits. Anthocyanins are generally not very stable compounds and are subject to rapid degradation reactions due to higher temperatures, pH etc. Carbohydrates can interact with anthocyanins through various mechanisms and thus may slow down the degredation of anthocyanins under adverse conditions. As part of the presented experiment, model samples of anthocyanin standard cyanidin-3-galactoside and cyanidin-3-rutinoside in various sugar solutions (glucose, sucrose, fructose, fructose/glucose) were prepared and stored at 20, 35 and 50°C for 4 weeks in an accelerated storage test. The red colour

degradation and change in the overall colour of anthocyanin standards was determined using a spectrophotometer in the CIE L*a*b* colour space. The overall change in colour (ΔE) of anthocyanins ranged from 2 to 10 units. The overall change in colour and the loss of the red colour (a*) of anthocyanins occurred most and most rapidly at 50°C. The sugar solution with the greatest potential to slow down the degradation of anthocyanins when stored at higher temperature showed a fructose solution. Cyanidin-3-rutinoside was more stable than cyanidin-3-galactoside during the storage and retention of the red colour, which may have been caused by the bound disaccharide rutinose, which had a greater protective effect than the monosaccharide galactose.

Keywords: *anthocyanins, stability, colour changes, accelerated storage test, carbohydrates*

ÚVOD

Anthokyany jsou nejrozšířenější skupina hydrofilních rostlinných barviv. Zároveň tvoří většinu z flavonoidů vyskytujících se v přírodě. Anthokyany se vyskytují v ovoci a zelenině, nejčastěji pak v bobulovém ovoci, přičemž jsou zodpovědné za jejich charakteristické barvy (Dobson et al., 2017). Anthokyany jsou glykosidy, jejichž aglykony tvoří anthokyanidiny. V přírodě se vyskytuje 17 různých anthokyanidinů, z nichž nejvýznamnější jsou delfinidin, pelargonidin, peonidin, petunidin, malvidin a kyanidin. Jelikož může být navázáno na jednotlivé anthokyanidiny více různých monosacharidů, které navíc mohou být substituované, počet anthokyanů násobně převažuje počet anthokyanidinů (Markakis & Jurd, 2009). Anthokyany se používají jako potravinářské barvivo k barvení kyselých potravin více než 100 let (Velíšek, 2014). Anthokyany nejsou používány pouze jako barviva, zkoumány jsou pro jejich vliv na zdraví člověka. Příkladem jsou pak vlastnosti jako antioxidační a protizánětlivý účinek, dále účinek proti obezitě, diabetu, nádorům a vředům (Oancea, 2021).

Zdroji bohatými na anthokyany jsou ostružiny, arónie, černý bez i kalichy růží obsahující koncentraci anthokyanů v rozmezí 0,8 až 15 g/kg (Velíšek, 2014). Rostliny bohaté na anthokyany jsou druhy *Vaccinium*, jako jsou borůvky, brusinky a borůvky; *Rubus* bobule, včetně černé maliny, červené maliny a ostružiny, černý rybíz, třešeň, lilek (slupka), zelí a fialové okvětní lístky (Cevallos-Casals, Byrne, Okie, & Cisneros-Zevallos, 2006).

Chemická stabilita anthokyanů je hlavním tématem mnoha studií vzhledem k jejich rozsáhlým možnostem využití především jako alternativy k umělým barvivům v potravinách, popř. jejich zdravotním benefitům. Díky kopigmentaci jsou anthokyany stabilní v květinách, ovoci a zelenině (Rein & Heinonen, 2004). Jednou z nejsledovanějších vlastností v technologiích je jejich stabilita, která je relativně velmi nízká. Mezi hlavní faktory ovlivňující stabilitu anthokyanu patří teplota, pH, přítomnost enzymů, vystavení kyslíku, vystavení záření, struktura molekuly a dále přítomnost některých dalších sloučenin jako jsou například kovy, kyselina askorbová nebo oxid siřičitý (Eiro & Heinonen, 2002).

Citlivost antokyanů na pH a tepelné ošetření značně omezuje jejich použití v potravinách jako funkčních ingrediencí nebo přírodních pigmentů (Jin et al., 2020). Míra degradace anthokyanů se zvyšuje s rostoucí teplotou jako tomu je i u většiny chemických reakcí (Markakis & Jurd, 2009). Stabilita anthokyanů vůči vysokým teplotám je v porovnání se syntetickými barvivy velmi malá. Avšak, jsou odolnější než ostatní přírodní barviva jako

například betalainy, karotenoidy či chlorofyly (Oancea, 2021). Tepelné ošetření potravin obsahujících anthokyany zahrnuje záhřev od 50 do 150 °C. Intenzita a doba trvání záhřevu má velký vliv na stabilitu anthokyanů (Patras et al., 2010). Při porovnání jednotlivých ztrát anthokyanů při různém záhřevu a různém pH roztoku se ukázalo, že nejstabilnější jsou anthokyany při nejnižším měřeném pH = 2,2 a nejméně stabilní při nejvyšším měřeném pH = 6. Při různém ohřevu v rozmezí od 100 do 165 °C byla rychlost degradace při 165 °C až sedmdesátkrát vyšší než při 100 °C. Při zkoumání termostability se též ukázalo, že kyanidin-3-rutinosid je stabilnější než kyanidin-3-glukosid (Sui et al., 2014).

Stabilita anthokyanů je ovlivňována také jednotlivými složkami ovoce, konkrétně pak kyselinou askorbovou. (Del Pozo-Insfran et al., 2004) uvádí, že přídavek kyseliny askorbové o koncentraci 45 mg/l způsobil třicetinásobnou rychlost degradace anthokyanů z acai. (Roidoung, Dolan, & Siddiq, 2017) ve své studii naopak uvádí pozitivní vliv kyseliny askorbové na zpomalení degradace anthokyanů v brusinkové šťávě. Přidáním cukrů lze snížit aktivitu vody a tím dosáhnout určitého ochranného účinku. To je nejspíše dáno inhibicí enzymatických reakcí či bránícím efektem vůči kondenzačním reakcím (Wrolstad et al., 1990). Ve studii (Nikkhah et al., 2007) měla 20% koncentrace sacharosy také pozitivní efekt na stabilitu anthokyanů různých bobulí, vyšší koncentrace tento efekt naopak snížila. Studie nicméně uvádí, že sacharosa samotná není dostatečně schopna snížit aktivitu enzymů a tohoto efektu lze dosáhnout zamražením.

Názor na efekt cukrů ovlivňujících stabilitu anthokyanů není ovšem jednotný. Studie (Li et al., 2016) zabývající se vlivem cukrů sacharosy, glukosy a fruktosy na stabilitu anthokyanů fialových batátů uvedla, že koncentrace sacharidů 50 g/l zvýšila degradaci anthokyanů při ohřevu na 80-100 °C při pH = 4. Koncentrace 200 g/l měla mírnější vliv na degradaci, což bylo nejspíše způsobeno tím, že přibývající koncentrace cukrů snížila aktivitu vody. Přesto byly anthokyany roztoků o koncentraci 200 g/l cukrů méně stabilní než roztoky bez přídavku cukrů. Stejná studie dále uvádí, že makromolekulární sacharidy jako sodná sůl karboxymethylcelulosy, maltodextrin a glukomannan měly protektivní účinek za stejných podmínek v koncentracích 4; 8 a 1,6 g/l.

Limitujícím parametrem využití anthokyanů v průmyslových odvětvích jako je potravinářství, farmacie či kosmetika je právě jejich termostabilita. Anthokyany jsou poměrně rezistentní vůči záhřevu při nižším pH. Pozitivní efekt na resistenci vůči degradaci anthokyanů při zahřívání má přidání cukrů např. trehalosy či glukosy, přídavek kovových iontů jako železitého kationtu, intermolekulární kopigmentací s fenolovými sloučeninami jako kyselina gallová, ferulová či další jiné flavonoidy, enkapsulace pomocí biopolymerů proteinů nebo polysacharidů, přimícháním kvasinkových manoproteinů, fortifikace antioxidantů na bázi thiolů jako je cystein, přidáním produktů Maillardovy reakce, mírný blanšírovací zákrok za cílem inaktivace enzymů a vyloučení kyslíku v průběhu ohřevu (Oancea, 2021).

Není jednoznačný názor z akademické obce ohledně vlivu sacharidů na stabilitu anthokyanů. Některé sacharidy ovlivňují stabilitu pozitivně, jiné zase naopak. Důležitým faktorem při tvorbě experimentu je určení koncentrace sacharidů, jelikož se v rámci odborných publikací vedou rozsáhlé diskuse o tom, která koncentrace sacharidů pozitivně ovlivňuje zpomalení degradace anthokyanů v různých matricích a naopak. Literatura uvádí, že 25% cukerné roztoky a vyšší mají spíše protektivní účinek, avšak některé prameny nejsou v tomto úplně konzistentní. Cílem experimentu bylo zjistit, jestli některý z vybraných sacharidů má

protektivní účinek na zvolený standard anthokyanu a pokud ano, jestli se vliv tohoto účinku projeví v rámci celkové změny barvy a zpomalení degradace červené barvy standardů anthokyanů při skladování ve zvýšených teplotách během zrychleného skladovacího testu.

MATERIÁL A METODY

Příprava standardů anthokyanů

Byly vybrány dva standardy anthokyanů, konkrétně kyanidin-3-galaktosid a kyanidin-3-rutinosid. Zmíněné anthokyany byly zvoleny kvůli majoritnímu výskytu v přírodních produktech a odlišné formě glykosidace aglykonu. Pro přípravu zásobního roztoku standardu anthokyanů byla zvolena hmotnostní koncentrace 600 mg/l. Navážení standardu bylo provedeno pomocí mikrovah Model MYA 5,5Y (Radwag, Polsko) a kalibrovaného navažovacího kelímku. Po převedení navážky anthokyanu do odměrné baňky byla doplněna po rysku methanolem s vodou (1:3) dle IFU (International Fruit and Vegetable Juice Association) 71 metody.

Zásobní roztoky cukrů

Zásobní roztoky sacharosy, glukosy, fruktosy a glukosy s fruktosou o hmotnostním poměru 1:1 byly vytvořeny přibližnou navážkou 170 g cukru rozpuštěnou v 500 ml destilované vody. Hmotnostní zlomek cukru v roztoku (°Brix) byl stanoven digitálním refraktometrem (RM-40 Mettler Toledo, Česká republika) a aktivita vody zásobního roztoku na a_w přístroji Aqualab 4TEV (USA). Pro udržení pH na stálé hodnotě 3,4 ve vzorcích byl připraven octanový pufr z roztoku 0,1 mol/l kyseliny octové a roztoku 0,1 mol/l octanu sodného v příslušném poměru. Hodnota pH byla zvolena na základě poznatků a literární rešerše, kdy jsou dané anthokyany nejvíce stabilní ve formě flavyliového kationtu. Dále byl připraven zásobní roztok hydroxidu sodného o koncentraci 0,1 mol/l a zásobní roztok 0,1 mol/l HCl pro finální úpravu pH.

Příprava vzorků pro skladovací test

Cukerné roztoky fortifikované standardem anthokyanů určené pro zrychlený skladovací test byly vytvořeny v laminárním boxu s vertikálním prouděním vzduchu zásobním roztokem cukru, popřípadě stejným přídavkem destilované vody pro referenční vzorky. pH bylo změřeno přístrojem SevenCompact pH metrem při teplotě 25 °C. Vzorky byly připraveny do vialek s tmavým sklem z důvodu fotolability anthokyanů. Celkový objem každého připraveného vzorku činil 1 ml. Pro zachování celistvosti experimentu z důvodu odlišných molárních hmotností analytických standardů byl proveden přepočet anthokyanů na látkovou koncentraci, která v každé vialce byla 0,15 mol/l.

Vialky se zatmaveným sklem a přikryté hliníkovou folií obsahující různé cukerné roztoky fortifikované standardy anthokyanů kyanidin-3-galaktosidu a kyanidin-3-rutinosidu byly uloženy do termostatů o teplotě 20, 35 a 50 °C. Změna barvy anthokyanů byla stanovena jednou týdně pro teploty 20 a 35 °C, dvakrát týdně pro 50 °C. Celková délka skladovacího testu činila 4 týdny.

Stanovení změny barvy

Reflektance skladovaného vzorku byla změřena ve vialkách na stolním spektrofotometru Minolta CM-5 (Konica Minolta, Japonsko). Změřená barva vzorku pak byla zapsána v systému CIE L*a*b*. K měření byly využity módy SCI (Specular Component Included) i SCE (Specular Component Excluded). Pro hodnocení změny barvy byl vybrán SCI mód z důvodu měření anthokyanů v lesklém materiálu, kdy SCI mód s tímto odleskem v rámci měření metodou reflektance počítá. Přístroj byl kalibrován na bílou (L* = 100) a černou (L* = 0) barvu. Parametry přístroje jsou: maska-MAV (8 mm), lesk – SCI, UV-100 % Full, pozorovatel 10°, osvětlovací těleso D 65, barevný prostor-CIE L*a*b*. Data byla zpracována softwarem SpectraMagic NX Lite (Konica Minolta®, Tokio, Japonsko). Hodnoty byly vypočteny jako průměr ± směrodatná odchylka pro n = 5.

VÝSLEDKY A DISKUSE

K vyjádření změny barvy byla použita **Rovnice 1**. Pro kvalitativní vyhodnocení změny barvy (ΔE) byla využita stupnice vytvořená autorem (Shevell, 2004) viz **Tab. 1**, která popisuje, jak intenzivně můžeme změnu barvy pozorovat.

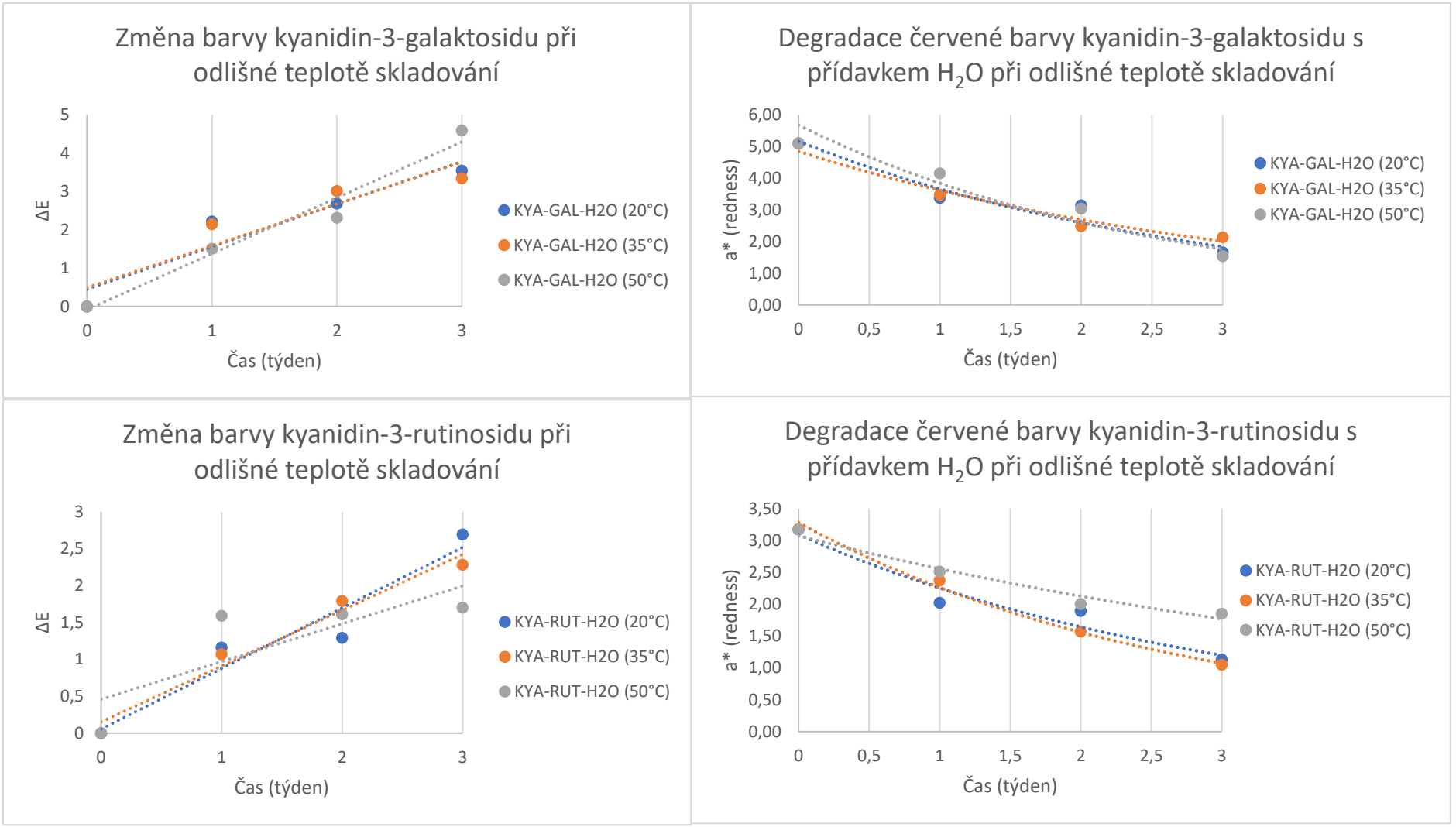
$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \quad (1)$$

Tabulka 1: Vnímání barevné změny dle (Shevell, 2004)

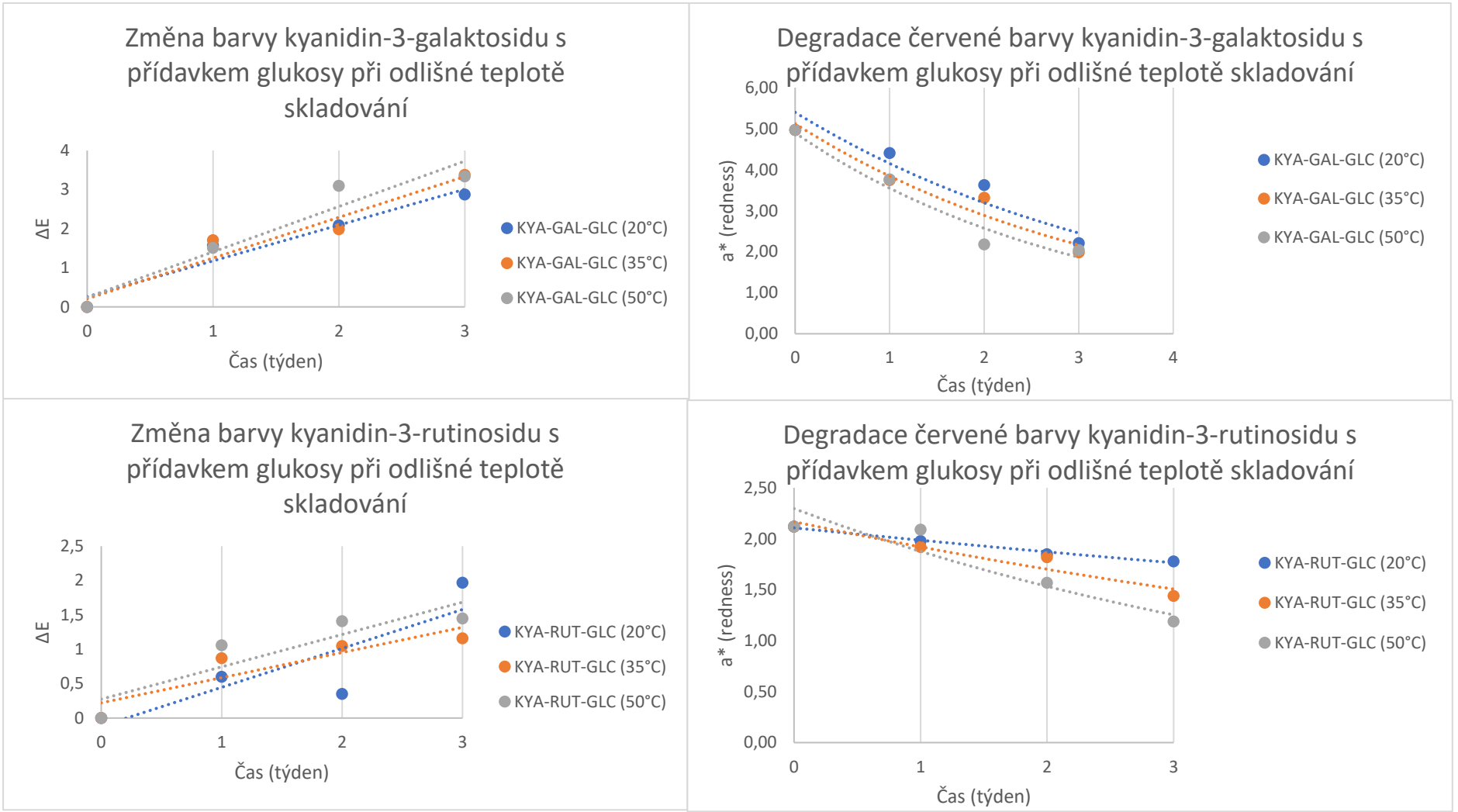
ΔE	Vnímání barevné změny
≤ 1	Nepostřehnutelné lidským okem
1-2	Postřehnutelné při bližším zkoumání
2-10	Postřehnutelné na první pohled
11-49	Barvy jsou podobnější jejich opaku
50-100	Barvy jsou přesně opačné

Na **Obr. 2-6** jsou zobrazeny grafy pro ΔE a zároveň degradace červené barvy (a*) pro použité standardy anthokyanů kyanidin-3-galaktosid a kyanidin-3-rutinosid v kombinaci s cukernými roztoky a jako referenčním roztokem vodou, které byly skladovány při různých teplotách (20, 35 a 50°C) při konstantní hodnotě pH = 3,4 a a_w = 0,97 při hodnotě °Bx = 25,00 % cukerných roztoků.

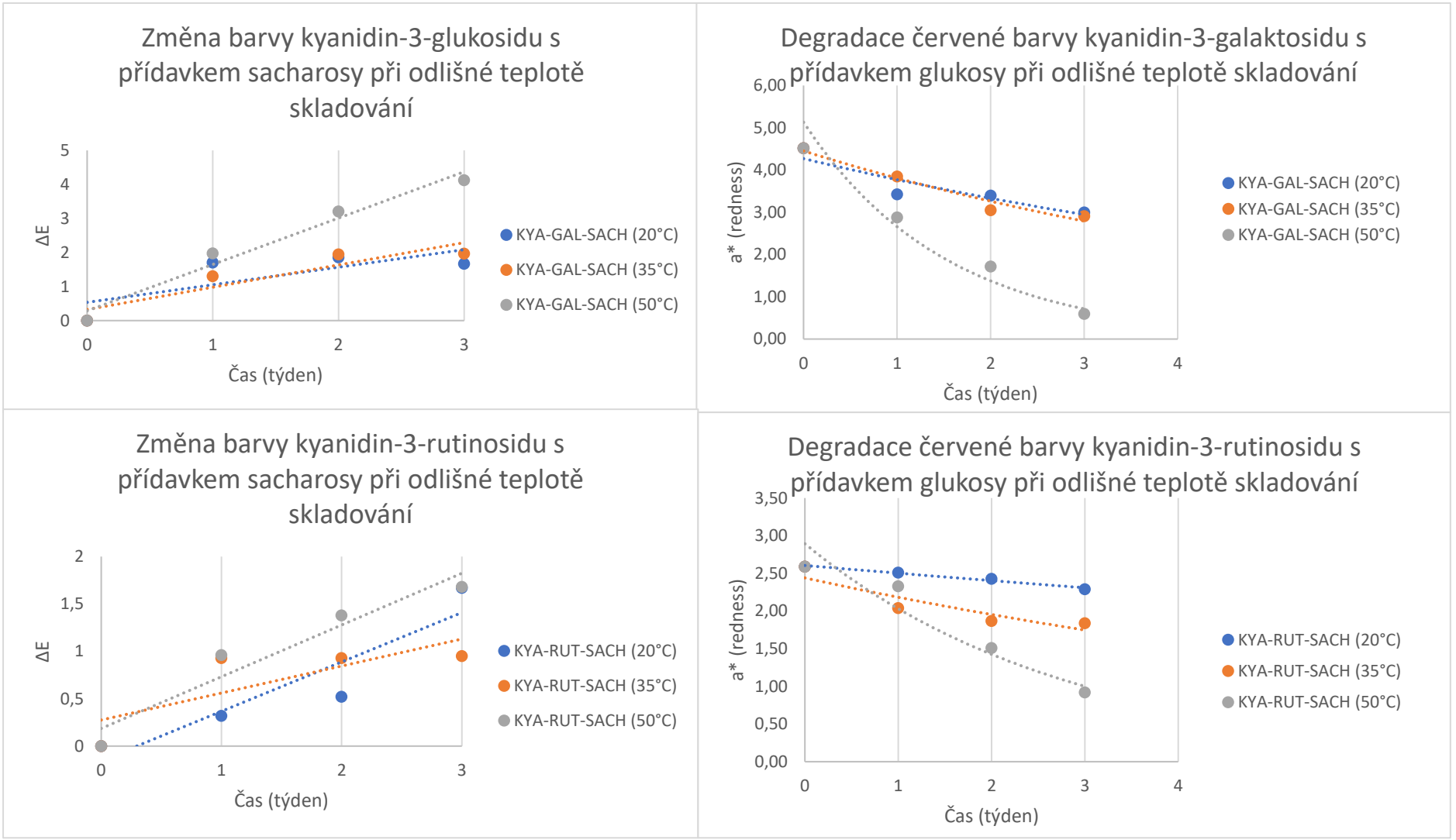
Z výsledných grafů je patrné, že k nejvíce viditelné celkové změně barvy a degradaci červené barvy anthokyanů dochází nejrychleji a nejvíce při skladování při 50°C a naopak dle očekávání nejmenší změna barvy a degradace červené barvy (a*) byla při skladování ve 20°C, což je v souladu s odbornou literaturou (Ma et al., 2012). Celková změna barvy u obou použitých standardů anthokyanů se dle uvedené tabulky, kterou publikoval (Shevell, 2004) pohybovala nejčastěji v intervalu od 2 do 10, což značí postřehnutelné změny na první pohled. Z rozdílných degradačních křivek červené barvy u daných anthokyanů vyplývá, že degradace byla pomalejší, respektive úbytek červené barvy standardu anthokyanu menší u kyanidin-3-rutinosidu než u kyanidin-3-galaktosidu. To mohlo být způsobeno formou glykosidace aglykonu, kdy rutinosid jako disacharid mohl vykazovat nepatrně větší protektivní účinek než



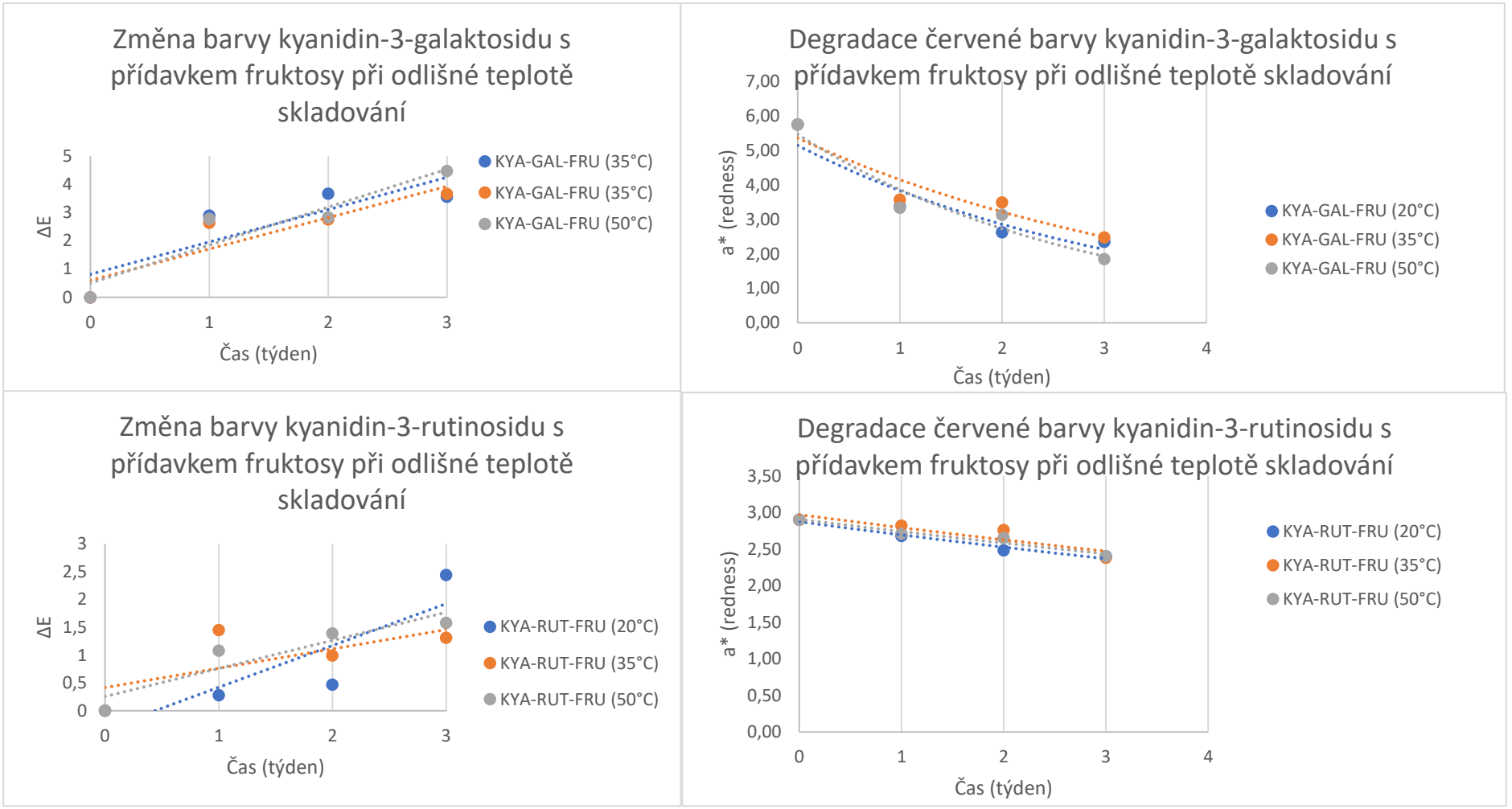
Obrázek 2: Změna barvy kyanidin-3-galaktosidu a kyanidin-3-rutinosidu ve vodném roztoku při skladování v různých teplotách a zároveň degradace jejich červené barvy vyjádřené jako změna a* v systému CIE L*a*b*. Z důvodu přehlednosti uvedených dat v grafech nebyly zobrazeny směrodatné odchylky pro jednotlivá měření. V grafech uvedené zkratky GLC – glukosa, SACH – sacharóza, FRU – fruktosa, FRU/GLC – hmotnostní poměr fruktosy s glukosou 1:1 značí použité cukerné roztoky



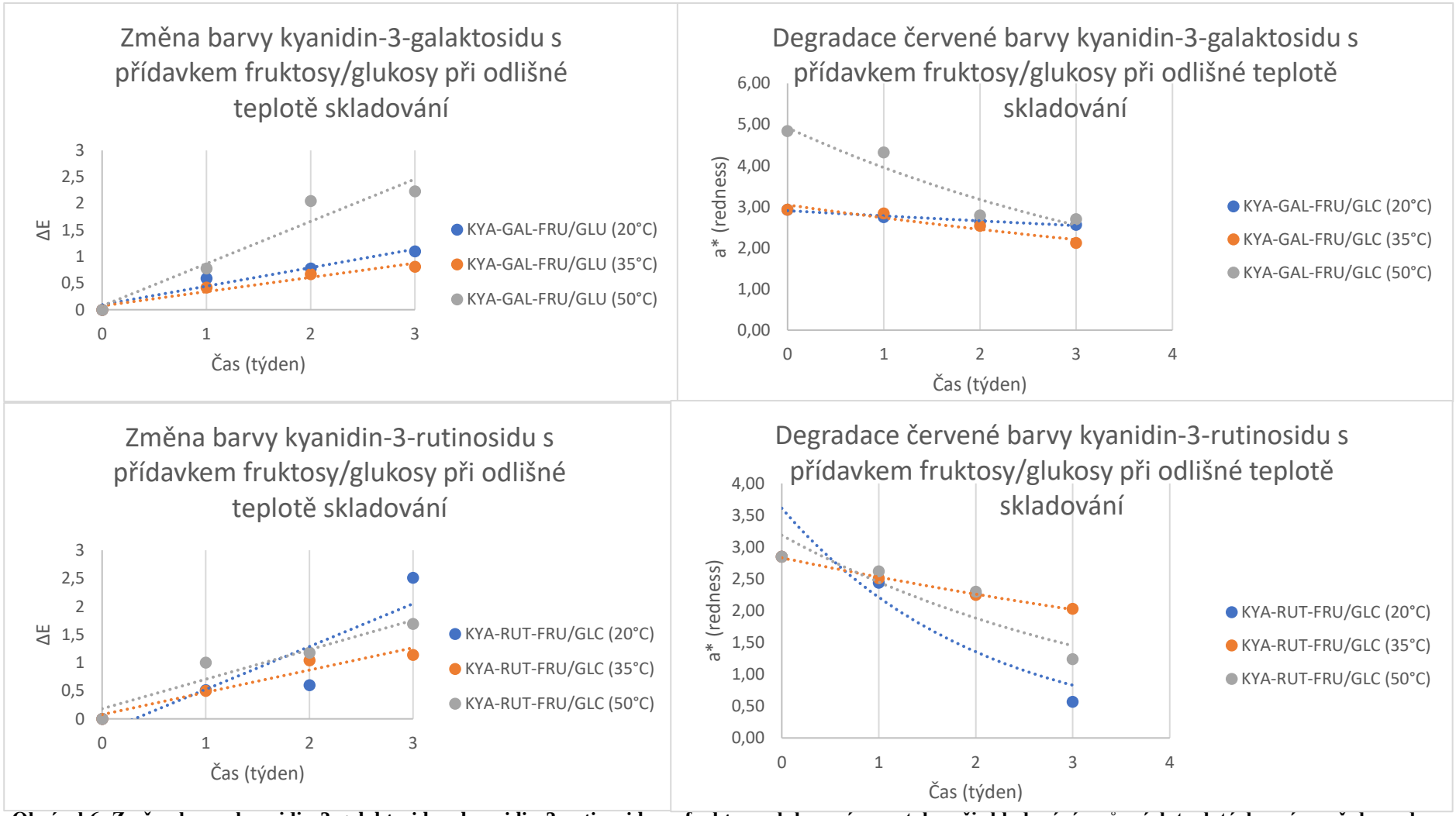
Obrázek 3: Změna barvy kyanidin-3-galaktosidu a kyanidin-3-rutinosidu v glukosovém roztoku při skladování v různých teplotách a zároveň degradace jejich červené barvy vyjádřené jako změna a* v systému CIE L*a*b*. Z důvodu přehlednosti uvedených dat v grafech nebyly zobrazeny směrodatné odchylky pro jednotlivá měření. V grafech uvedené zkratky GLC – glukosa, SACH – sacharóza, FRU – fruktosa, FRU/GLC – hmotnostní poměr fruktosy s glukosou 1:1 značí použité cukerné roztoky



Obrázek 4: Změna barvy kyanidin-3-galaktosidu a kyanidin-3-rutinosidu v sacharosovém roztoku při skladování v různých teplotách a zároveň degradace jejich červené barvy vyjádřené jako změna a* v systému CIE L*a*b*. Z důvodu přehlednosti uvedených dat v grafech nebyly zobrazeny směrodatné odchylky pro jednotlivá měření. V grafech uvedené zkratky GLC – glukosa, SACH – sacharóza, FRU – fruktosa, FRU/GLC – hmotnostní poměr fruktosy s glukosou 1:1 značí použité cukerné roztoky



Obrázek 5: Změna barvy kyanidin-3-galaktosidu a kyanidin-3-rutinosidu ve fruktosovém roztoku při skladování v různých teplotách a zároveň degradace jejich červené barvy vyjádřené jako změna a* v systému CIE L*a*b*. Z důvodu přehlednosti uvedených dat v grafech nebyly zobrazeny směrodatné odchylky pro jednotlivá měření. V grafech uvedené zkratky GLC – glukosa, SACH – sacharóza, FRU – fruktosa, FRU/GLC – hmotnostní poměr fruktosy s glukosou 1:1 značí použité cukerné roztoky



Obrázek6: Změna barvy kyanidin-3-galaktosidu a kyanidin-3-rutinosidu ve fruktoso-glukosovém roztoku při skladování v různých teplotách a zároveň degradace jejich červené barvy vyjádřené jako změna a* v systému CIE L*a*b*. Z důvodu přehlednosti uvedených dat v grafech nebyly zobrazeny směrodatné odchylky pro jednotlivá měření. V grafech uvedené zkratky GLC – glukosa, SACH – sacharóza, FRU – fruktosa, FRU/GLC – hmotnostní poměr fruktosy s glukosou 1:1 značí použité cukerné roztoky

monosacharid galaktosid. Pro zpomalení degradace anthokyanů se jeví jako nejvhodnější roztok fruktosy, kde na **Obr. 5** můžeme zaznamenat pozvolnou degradaci kyanidin-3-rutinosidu proti referenčnímu vodnému prostředí. Na **Obr. 3** v rámci degradace červené barvy kyanidin-3-galaktosidu v prostředí glukosového roztoku je názorně vidět, že intenzita červené barvy se snižuje na základě teploty skladování. Skladování modelových vzorků při teplotě 20 a 35°C vykazovalo podobné znaky rychlosti a intenzity degradace červené barvy a zároveň byly pozorovány podobné celkové změny barvy. Ve studii, kde se degradací anthokyanových látek zabývali (Kara & Erçelebi, 2013), průběh úbytku červené barvy anthokyanů měl stejný exponenciální charakter jako v rámci našeho experimentu. Dále je taktéž z **Obr. 4 a 6** zjevné, že cukerné roztoky tvořené samotnou glukosou a kombinací fruktosy s glukosou naopak zrychlovaly degradaci červené barvy obou standardů anthokyanů proti anthokyanům, které byly pouze ve vodném prostředí.

Závěr

Z výsledků vyplývá, že dle očekávání degradace anthokyanových standardů, která byla vyjádřena úbytkem červené barvy (a*) a celkovou změnou barvy (ΔE) probíhá nejrychleji při teplotě skladování 50 °C, což bylo ve shodě s odbornou literaturou. Největší celkové změny barvy anthokyanů v přítomnosti všech použitých sacharidů i vody se projevovaly také při 50 °C a konkrétně nejrychlejší změna proběhla u obou standardů v přítomnosti fruktosy. Na druhé straně úbytek červené barvy anthokyanů byl zpomalen v přítomnosti fruktosy konkrétně u standardu kyanidin-3-rutinosidu. V roztocích glukosy a fruktosy/glukosy proběhla degradace červené barvy rychleji než ve vodném prostředí. Celkově kyanidin-3-rutinosid vykazoval vyšší stabilitu při skladování v odlišných teplotách než kyanidin-3-galaktosid, což by se dalo vysvětlit vyšší navázanou glykosidovou jednotkou v molekule anthokyanu v podobě rutinosy. Celková změna barvy se pohybovala v intervalu od 2 do 10, což značilo změny postřehnutelné pouhým okem.

V návaznosti na tento experiment by bylo zapotřebí vypočítat rychlostní konstanty a aktivační energie příslušných kinetických reakcí a data následně statisticky zpracovat, aby se případně dal potvrdit účinek jednotlivých sacharidů na zpomalení degradace anthokyanových barviv.

PODĚKOVÁNÍ

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt A1_FPBT_2023_004

LITERATURA

1. Dobson, Gary, Gordon J. McDougall, Derek Stewart, Miguel Ángel Cubero, and Reijo O. Karjalainen. 2017. “Effects of Juice Matrix and Pasteurization on Stability of Black Currant Anthocyanins during Storage.” *Journal of Food Science* 82 (1): 44–52.
2. Markakis, P, and Leonard Jurd. 2009. “Anthocyanins and Their Stability in Foods.” *C R C Critical Reviews in Food Technology*, no. June 2012: 437–56.
3. Oancea, Simona. 2021. “A Review of the Current Knowledge of Thermal Stability of Anthocyanins and Approaches to Their Stabilization to Heat.” *Antioxidants* 10 (9).
4. Velíšek, Jan. 2014. *The Chemistry of Food.* 677-694.

5. Rein, Maarit J., and Marina Heinonen. 2004. “Stability and Enhancement of Berry Juice Color.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (10): 3106–14.
6. Eiro, Maarit J., and Marina Heinonen. 2002. “Anthocyanin Color Behavior and Stability during Storage: Effect of Intermolecular Copigmentation.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (25): 7461–66.
7. Patras, Ankit, Nigel P. Brunton, Colm O’Donnell, and B. K. Tiwari. 2010. “Effect of Thermal Processing on Anthocyanin Stability in Foods; Mechanisms and Kinetics of Degradation.” *Trends in Food Science and Technology* 21 (1): 3–11.
8. Sui, Xiaonan, Xin Dong, and Weibiao Zhou. 2014. “Combined Effect of PH and High Temperature on the Stability and Antioxidant Capacity of Two Anthocyanins in Aqueous Solution.” *Food Chemistry* 163: 163–70.
9. Li, Xiao Ding, Jie Li, Meng Wang, and Hong Jiang. 2016. “Copigmentation Effects and Thermal Degradation Kinetics of Purple Sweet Potato Anthocyanins with Metal Ions and Sugars.” *Applied Biological Chemistry* 59 (1): 15–24.
10. Nikkhah, Elham, M. Khayamy, R. Heidari, and R. Jamee. 2007. “Effect of Sugar Treatment on Stability of Anthocyanin Pigments in Berries.” *Journal of Biological Sciences*.
11. Wrolstad, Ronald E., Grete Skrede, Per Lea, and Grethe Enersen. 1990. “Influence of Sugar on Anthocyanin Pigment Stability in Frozen Strawberries.” *Journal of Food Science* 55 (4): 1064–65.
12. Pozo-Insfran, David Del, Carmen H. Brenes, and Stephen T. Talcott. 2004. “Phytochemical Composition and Pigment Stability of Açai (Euterpe Oleracea Mart.).” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (6): 1539–45.
13. Cevallos-Casals, B. A., Byrne, D., Okie, W. R., & Cisneros-Zevallos, L. (2006). Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties. *Food Chemistry*, *96*(2), 273–280. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.032.
14. Kara, Ş., & Ercşlebi, E. A. (2013). Thermal degradation kinetics of anthocyanins and visual colour of Urmu mulberry (Morus nigra L.). *Journal of Food Engineering*, *116*(2), 541–547. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.12.030.
15. Ma, C., Yang, L., Yang, F., Wang, W., Zhao, C., & Zu, Y. (2012). Content and color stability of anthocyanins isolated from Schisandra chinensis fruit. *International Journal of Molecular Sciences*, *13*(11), 14294–14310. https://doi.org/10.3390/ijms131114294.
16. Roidoung, S., Dolan, K. D., & Siddiq, M. (2017). Estimation of kinetic parameters of anthocyanins and color degradation in vitamin C fortified cranberry juice during storage. *Food Research International*, *94*, 29–35. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.01.013.
17. Shevell, K. S. (2004). The Science of color. *Choice Reviews Online*, *41*(06), 41-3494-41–3494. https://doi.org/10.5860/choice.41-3494.

P22

Změny funkčních parametrů polymerních obalových materiálů v závislosti na technologických podmínkách při výrobě potravin

Changes in functional parameters of polymer packaging materials depending on technological conditions during food production.

Eliška Václavíková, Lenka Votavová, Lukáš Vápenka, Martina Čikešová

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Cílem této práce bylo studium změn funkčních parametrů polymerních obalových fólií v závislosti na technologickém zpracování potravin. Fólie byly vystaveny účinkům γ-záření o celkové dávce 10 kGy a 50 kGy, vysokému hydrostatiskému tlaku 400 MPa působícímu po dobu 20 min. U vzorků byl po jejich ošetření sledován vliv podmínek na mechanické vlastnosti, vyjádřené jako maximální síla potřebná k přetržení vzorku, na propustnost pro vodní páru a kyslík, na optické vlastnosti popsané transmitančními spektry a parametrem světlosti (L*) barevného systému CIE L*a*b* a na celkovou migraci. K rozhodnutí, zda došlo ke statisticky významným změnám funkčních vlastností vzorků fólií neošetřených a ošetřených γ-zářením, vysokým hydrostatickým tlakem byl použit dvouvýběrový F–test, dvouvýběrový párový Studentův t–test a Analýza hlavních komponent. Na základě provedených analýz a statistického vyhodnocení výsledků byly prokázány změny funkční vlastností u vzorků ošetřených γ-zářením a vysokým hydrostatickým tlakem.

Klíčová slova: *obalová fólie, γ-záření, vysoký hydrostatiský tlak, mechanické vlastnosti, propustnost pro vodní páru, propustnost pro kyslík, optické vlastnosti, F–test, Studentův t–test, analýza hlavních komponent*

SUMMARY

The aim of this work was to study changes of functional parameters of polymeric packaging materials in dependence on technological processing of foodstuffs. Polymer film samples obtained from commercial manufacturers were processed by preservation methods: γ-radiation preservation and high-pressure processing. The films were exposed to γ-radiation at a total dose of 10 kGy and 50 kGy and high hydrostatic pressure of 400 MPa for 20 minutes. The effects of the treatment conditions on the mechanical properties, expressed as the maximum force required to break the sample, the permeability for water vapor and oxygen, the optical properties described by the transmittance spectra, and according to the CIE L*a*b* scheme for lightness (L*) and total migration. Two-sample F-test, two-sample paired Student's t-test, and Main Component Analysis were used to determine whether there were statistically significant changes in the functional properties of film samples untreated and treated with γ-radiation and

high hydrostatic pressure. Based on the performed analyzes and statistical evaluation of the results, changes in functional properties were demonstrated in samples treated with γ-radiation and high hydrostatic pressure.

Keywords: *packaging film, γ-radiation, high hydrostatic pressure, thermosterilization, mechanical properties, water vapor permeability, oxygen permeability, optical properties, infrared spektrum, F-test, Student's t-test, main component analysis*

ÚVOD

Obaly jsou nezbytnou součástí všech odvětví potravinářského průmyslu jako součást výroby, skladování a distribuce potravin. Obal musí splňovat několik funkcí současně – chrání potravinu proti znehodnocení, vytváří vhodnou manipulační jednotku a informuje, proto obaly tvoří 15-20 % ceny daného výrobku (Fellows, 2009).

Trendem posledních let je nahradit klasické obalové materiály (dřevo, papír, sklo, kov) materiály polymerními, které mají širokou variabilitu ve funkčních vlastnostech, ale musí splnit vysoké požadavky na kvalitu, zdravotní nezávadnost a je potřeba zhodnotit i ekonomická a ekologická hlediska (Rahman, 2007).

U řady potravinářských výrobků tvoří obal nezbytnou funkční součást produktu a prochází technologickým zpracováním současně s potravinou (např. sterilované potraviny, potraviny konzervované zářením, vysokým hydrostatickým tlakem, …). Technologické operace mají vliv na potravinu a obal, ale i na vzájemné působení obalu a potraviny. Proto je při volbě vhodného obalu pro danou potravinu důležité znát funkční vlastnosti obalového materiálu a jeho změny během technologického zpracování potraviny.

V této práci byly sledovány změny funkčních vlastností (mechanické pevnosti, bariérové vlastnosti, optické vlastnosti a strukturní změny) polymerních fólií určených pro styk s potravinou v závislosti na technologických podmínkách při výrobě balených potravin (konzervace zářením a vysokým hydrostatickým tlakem).

MATERIÁLY A METODY

Funkční vlastnosti byly sledovány u osmi vzorků polymerních fólií, jejich seznam a specifikace je uveden v Tabulce 1.

Ošetření vzorků

Vzorky polymerních obalových fólií byly ošetřeny γ-zářením (simulace radiosterilace) a vysokým hydrostatickým tlakem (simulace vysokotlaké pasterace).

Tabulka 1: Seznam vzorků polymerních obalových materiálů

Vzorek	Označení fólie	Složení [%]	Tloušťka fólie [µm]
1	PE	Polyethylen [100]	47,8 ± 0,9
2	PET	Polyethylentereftalát [100]	12,8 ± 0,9
3	PP	Polypropylen [100]	18,1 ± 0,8
4	PPmet	Polypropylen metalizovaný [100]	44,1 ± 0,9
5	PP/PE	Polypropylen [20] / Polyethylen [80]	51,8 ± 1,1
6	PETmet/PE	Polyethylentereftalát metalizovaný [82] / Polyethylen [18]	86,1 ± 1,0
7	PET/Al/PE	Polyethylentereftalát [20] / Hliník [10] / Polyethylen [70]	83,4 ± 2,2
8	PP/PETmet/PE	Polypropylen [30] / Polyethylentereftalát metalizovaný [12] / Polyethylen [58]	49,3 ± 0,1

Ozáření vzorků bylo provedeno v Ústavu jaderného výzkumu v Řeži. První řada vzorků byla ozářena γ-zářením kobaltového zdroje při teplotě 18 °C a celkové absorbované dávce 10,4 ± 0,4 kGy. Druhá řada vzorků byla vystavena dávce 50,2 ± 1,6 kGy. Poté byly vzorky skladovány při pokojové teplotě.

Ošetření vysokým hydrostatickým tlakem (HPP) bylo provedeno ve Výzkumném ústavu potravinářském Praha. Vzorky fólií byly zavinuty do roliček o maximální výšce 15 cm, vloženy do polyethylenového sáčku, zality pitnou vodou o teplotě 16 °C a vystaveny tlaku 400 MPa po dobu 20 minut. Po ošetření byly vzorky vyjmuty z polyethylenového sáčku, osušeny a skladovány při laboratorní teplotě.

Funkční vlastnosti vzorků fólií a jejich stanovení

Tloušťka vzorků byla proměřena na L&W mikrometru 51 na deseti různých místech fólie. Výsledky byly užity pro specifikaci vzorků, při stanovení propustnosti pro kyslík a stanovení mechanických vlastností. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny, Dean-Dixonovým testem vyřazeny odlehlé hodnoty a konečné hodnoty vyjádřeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka.

Propustnost pro vodní páru byla provedena dle normy ČSN 770332. Metoda je založena na stanovení množství vodní páry, která prošla vzorkem o definované ploše, při dané teplotě a vlhkosti vzduchu. Pomocí šablony se ze vzorku vystřihla kruhová plocha o daném poloměru. Do testovací misky se navážilo definované množství silikagelu, poté se na misku umístil vystřižený vzorek fólie a vše se přiklopilo prstencovou šablonou. Do prostoru mezi vnější hranou prstencové šablony a vnitřní hranou stěny žlábku testovací misky byla napipetována vosková těsnící směs, která se nechala několik minut zatuhnout. Následovalo zvážení misek a jejich umístění do klimatické komory temperované na 23 °C a relativní vlhkost 85 %. Ve stanovených časových intervalech byly misky zváženy na analytických váhách s přesností

na čtyři desetinná místa. Každá fólie byla proměřena v pěti stanoveních. Následně byla vypočítaná propustnost q [$g.m^{-2}.d^{-1}$] dle vzorce:

$$q = \frac{240.\Delta m}{S.\Delta t}$$

kde S představuje testovanou plochu vzorku [cm^2], Δm značí zvýšení hmotnosti misky za celkovou dobu měření Δt [mg], Δt značí celkovou dobu měření [h]. Získaná data byla statisticky zpracována, pomocí Dean-Dixonova testu byly vyřazeny odlehlé hodnoty propustnosti. Výsledné hodnoty pro vzorky fólií byly vyjádřeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka.

Propustnost pro kyslík byla stanovena pomocí přístroje Ox-Tran 2/20 MH s využitím počítačového programu Mocon Permeability Systém 2/21 a pomocí přístroje LYSSY L100–5000. Vzorky fólií č. 1 (PE), č. 3 (PP), č. 4 (PPmet) a č. 5 (PP/PE), u kterých byla předpokládaná propustnost pro kyslík do 200 $ml.m^{-2}.d^{-1}.0{,}1\ MPa^{-1}$, byly proměřeny na přístroji Ox-Tran 2/20 MH. Z každé fólie byly pomocí šablony a skalpelu vyříznuty dva výřezy ve tvaru šestiúhelníku, které byly podlepeny na hliníkovou clonu a umístěny do zkušebních cel. Cely byly utěsněny, byl nastaven průtok plynů (kyslíku a dusíku) a odečten jejich tlak. Do programu Mocon Permeability Systém 2/21 byly nastavena teplota 23 °C, relativní vlhkost 0 %, tlak plynů a změřená tloušťka fólie. Po dovršení ustálené hodnoty propustnosti pro kyslík bylo měření automaticky ukončeno. Pro každé měření a každou celu je vytvořen grafický záznam průběhu měření propustnosti a zobrazena ustálená hodnota propustnosti.

U vzorků č. 2 (PET), č. 6 (PETmet/PE), č. 7 (PET/Al/PE) a č. 8 (PP/PETmet/PE) se předpokládala nízká propustnost pro kyslík <0,1 $ml.m^{-2}.d^{-1}.0{,}1\ MPa^{-}1$. Propustnost pro kyslík byla proměřena na přístroji LYSSY L100–5000. Z fólie byla vystřižena část o rozměrech 10 × 15 cm, která byla vložena do zkušebních cel A a B. Cely byly utěsněny a po zapnutí přístroje byla na termostatu nastavena teplota 23 °C a průtok plynů 5 $ml.h^{-1}$. Po ustálení rovnovážného stavu se měření automaticky ukončilo. Z každého měření vznikl tištěný záznam hodnot propustností pro kyslík pro každou celu zvlášť.

Testování mechanických vlastností bylo provedeno na jednosloupcovém laboratorním zařízení Instron, Model 5544 a postupovalo se dle normy ČSN 64 0604. Instron byl nastaven a ovládán pomocí vyhodnocovacího softwaru Series IX. Z každé fólie bylo pomocí řezačky připraveno třicet proužků o rozměrech 15 × 100 mm, 15 kusů v podélném a 15 kusů v příčném směru návinu fólie. U proužků byla L&W mikrometrem změřena tloušťka fólie. Jednotlivé pásky byly uchyceny mezi čelisti zařízení Instron a za definovaných podmínek (rychlost posunu příčníku 250 $mm.min^{-1}$, maximální zatížení 2 kN, maximální prodloužení 1500 mm) byly natahovány a přetrženy. Instron zaznamenal maximální sílu potřebnou k přetržení pásku [N/15 mm], maximální napětí v tahu [MPa], celkové prodloužení v okamžiku přetržení [mm] a mechanickou práci potřebnou k přetržení pásku [J]. Získaná data byla statisticky vyhodnocena, pomocí Dean-Dixonova testu byly vyřazeny odlehlé hodnoty. Výsledné hodnoty maximální síly pro přetržení vzorku, maximálního napětí v tahu, celkové deformace a mechanické práce potřebné k přetržení vzorku byly vyjádřeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka.

Optické vlastnosti vzorků fólií byly měřeny na spektrofotometru PE Lambda 25 a spektrofotometru CM-5 a byly popsány transmitančními spektry a hodnotou světlosti

barevného systému CIE L*a*b*. Ze vzorků byly připraveny obdélníky o rozměrech 55 × 45 mm, které byly pomocí speciálního nástavce vloženy do zkušební cely spektrofotometru PE Lambda 25. Transmitanční spektrum bylo proměřeno v rozsahu vlnových délek 300-760 nm (interval 1 nm). Podmínky měření, záznamy naměřených dat a jejich vyhodnocení bylo provedeno pomocí softwaru UV WinLab 2.85.04. Každý vzorek byl proměřen třikrát.

Světlost L* vzorku barevného prostoru CIE L*a*b* byla proměřena přímým vložením vzorku do měřící cely spektrofotometru CM-5. K nastavení podmínek měření, záznam naměřených dat a jejich vyhodnocení bylo provedeno v programu QC SpectraMagic NX. Průhledné vzorky byly proměřeny v transmisním módu, neprůhledné v reflexním módu. Před měřením vzorků byl nejdříve proměřen slepý vzorek (prázdné prostředí měřící cely). Každý vzorek byl proměřen šestkrát. Naměřené hodnoty světlosti L* byly statisticky zpracovány, vyřazeny odlehlé hodnoty a konečné hodnoty vyjádřeny jako aritmetický průměr ± směrodatná odchylka.

Celková migrace netěkavých látek u vzorků fólií byla stanovena jako hmotnost odparku po odpaření simulantu, který byl v kontaktu se vzorkem fólie. Z fólie byl vystřižen obdélník o rozměrech 120 × 240 mm, ze kterého byl svařen sáček a naplněn 100 ml simulantu (96% ethanol). Sáček byl vložen do termostatu pří 40 °C na 10 dní. Po uplynutí této doby byl obsah sáčku kvantitativně převeden do předem zvážené odpařovací misky a odpařen na vodní lázni. Následně byla miska umístěna do sušárny nastavené na teplotu 105 °C a sušena do konstantní hmotnosti. Současně se vzorkem fólie byl odpařen i slepý pokus (100 ml 96% ethanolu). Každá fólie byla proměřena třikrát. Z výsledků migrace vyjádřené v $mg.dm^{-2}$ vzorku fólie byl vypočítaný aritmetický průměr a směrodatná odchylka.

Statistické zhodnocení bylo provedeno pomocí nástrojů pro analýzu vědeckých dat programu MS Excel. Dean-Dixonův test (Q-test) byl užit pro vyřazení odlehlých naměřených dat uvnitř souboru měření. Vypočítané hodnoty tohoto testu Q_1 a Q_n byly porovnány s tabelovanou hodnotou Q_α pro daný počet naměřených hodnot (n) na zvolené hladině významnosti $\alpha = 0{,}05$. Pokud byla vypočítaná hodnota Q_1 a Q_n větší nebo rovna kritické hodnotě Q_α, byla hodnota ze souboru dat vyloučena.

Pro porovnání rovnosti či nerovnosti dvou souborů dat byl použit dvouvýběrový F-test. Výsledkem F-testu je přijmutí nebo zamítnutí nulové hypotézy na zvolené hladině významnosti $\alpha = 0{,}05$.

Dvouvýběrový párový Studentův t-test byl použit pro rozhodnutí, jestli došlo ke statisticky významné změně funkčních vlastnosti fólie po aplikaci γ-záření a vysokého hydrostatického tlaku. Byly porovnány střední hodnoty naměřených dat u neošetřených a ošetřených vzorků fólií a byla vypočítána hodnota t a t_{krit}. Pomocí nulové hypotézy bylo rozhodnuto, jestli jsou střední hodnoty naměřených dat shodné nebo rozdílné. Pokud bylo $t \leq t_{krit}$ byla nulová hypotéza zamítnuta a střední hodnoty byly shodné na hladině významnosti $\alpha = 0{,}05$. Když bylo $t \geq t_{krit}$ byla nulová hypotéza přijata a střední hodnoty byly rozdílné na hladině významnosti $\alpha = 0{,}05$.

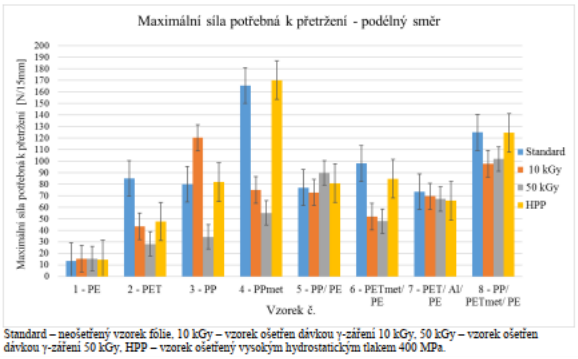
Vliv γ-záření a vysokého hydrostatického tlaku na optické vlastnosti vzorků fólií vyjádřených pomocí transmitančních spekter byl zhodnocen analýzou hlavních komponent (PCA), kterou zpracoval program Statistika 12.0.

VÝSLEDKY A DISKUSE

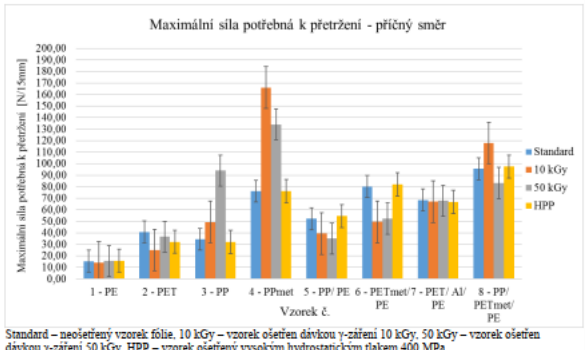
Cílem práce bylo zjistit, jestli se u testovaných fólií projeví vliv způsobu konzervace (konzervace zářením a vysokým hydrostatickým tlakem) na jejich funkční vlastnosti. Byly proměřeny jednosložkové fólie i fólie vícevrstvé. U fólií byla sledována mechanická pevnost, propustnost pro kyslík a vodní páru, transmitance, celková migrace, tloušťka a barva fólie.

Mechanické vlastnosti

Pomocí zařízení Instron Model 5544 byla u fólií proměřena maximální síla potřebná k přetržení fólie [N/15 mm], maximální napětí v tahu, tj. pevnost [MPa], celková deformace, tj. tržná délka [mm], mechanická práce potřebná k přetržení vzorku [J] a modul pružnosti v tahu [MPa]. V následujících obrázcích 1 a 2 jsou ve sloupcových grafech uvedeny aritmetické průměry naměřených dat s jejich směrodatnou odchylkou (chybové úsečky). Pro každou fólii jsou uvedeny čtyři hodnoty, Standard pro neošetřenou fólii, 10 kGy pro fólii ošetřenou dávkou γ-záření 10 kGy, 50 kGy pro fólii ošetřenou dávkou γ-záření 50 kGy a HPP pro fólii ošetřenou vysokým hydrostatickým tlakem.



Obrázek 7: Maximální síla potřebná k přetržení - podélný směr



Obrázek 6: Maximální síla potřebná k přetržení - příčný směr

Na Obrázku 1 a 2 jsou zachyceny hodnoty maximální síly potřebné k přetržení fólie v podélném (ve směru výroby) a příčném (kolmém ke směru výroby) směru. Pro další parametry mechanických vlastností (maximální napětí v tahu, celková deformace, mechanická práce potřebná k přetržení vzorku, a modul pružnosti v tahu) vykazovaly obdobný trend (data nejsou uvedeny). Z Obrázků 1 a 2 je patrný vliv ošetření na maximální sílu potřebnou k přetržení testovaných fólií.

V podélném směru došlo u většiny vzorků ke statisticky významnému snížení maximální síly v podélném směru. Ošetření γ-zářením může způsobit depolymeraci nebo zesítění polymerních materiálů, to způsobí snížení jejich pružnosti, ale může zvýšit maximální sílu potřebnou k přetržení fólie. Tento jev byl pozorován u fólií z polyethylénu vzorek č. 1 (PE), které jsou odolné γ-záření. Ošetření dávkou 50 kGy může zvyšovat maximální sílu potřebnou k přetržení fólie, tyto vlastnosti potvrdil ve své práci Zenkiewicz, (2004) a Ozen, (2001).

Ke zlepšení mechanických vlastností po aplikaci 10 kGy došlo u vzorku č. 3 (PP) (Siracusa, 2017). Vícevrstvé polymerní fólie, hlavně vzorek č. 7 (PET/Al/PE) vykazovaly minimální změny síly potřebné k přetržení při ošetření dávkou 10 kGy (Ozen, 2001). Při aplikaci dávky 50 kGy docházelo u vzorku č. 7 (PET/Al/PE) k delaminaci, obdobně u vzorku č. 6 (PETmet/PE). Stejné výsledky ve své studii uvádí Morris (2007), kdy k delaminaci dochází

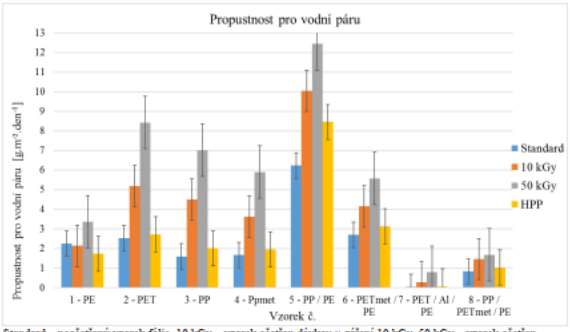
u vícevrstvých fólií obsahujících hliníkovou nebo metalizovanou vrstvu. Při dávce 50 kGy došlo u vzorku č. 2 (PET), č. 3 (PP), č. 4 (PPmet), č. 6 (PETmet/PE), č. 7 (PET/Al/PE) a č. 8 (PP/PETmet/PE) k výraznému snížení síly. Ke snížení mechanických vlastností po aplikaci vysokého hydrostatického tlaku (HPP) došlo u vzorku č. 2 (PET), č. 6 (PETmet/PE) a č. 7 (PET/Al/PE). K významnému zvýšení síly došlo u vzorku č. 1 (PE), č. 4 (PPmet) a č. 5 (PP/PE). Vzorek č. 3 (PP) a č. 8 (PP/PETmet/PE) nebyl hydrostatickým tlakem statisticky významně ovlivněn.

V příčném směru je vidět minimální vliv γ-záření a hydrostatického tlaku na vzorky č. 1 (PE) a č. 7 (PET/Al/PE). Dávka 10 kGy významně sníží sílu u vzorků č. 2 (PET), č. 5 (PP/PE) a č. 6 (PETmet/PE). Naopak u vzorků č. 3. (PP), č. 4 (PPmet) a č. 8 (PP/PETmet/PE) došlo k významnému zvýšení síly. Při dávce 50 kGy došlo k významnému snížení síly u vzorků č. 2 (PET), č. 5 (PP/PE), č. 6 (PETmet/PE) a č. 8 (PP/PETmet/PE), ke zvýšení síly u vzorků č. 3 (PP) a č. 4 (PPmet). Ke snížení síly po ošetření vysokým hydrostatickým tlakem došlo u vzorku č. 2 (PET). Změny u vzorků č. 1 (PE), č. 3 (PP), č. 4 (PPmet), č. 6 (PETmet/PE), č. 7 (PET/Al/PE) a č. 8 (PP/PETmet/PE) nejsou statisticky významné.

Porovnáním výsledků maximální síly potřebné k přetržení vzorku v podélném a příčném směru je zřejmý vliv směru výroby fólie a ten je zásadní pro popis vlastností obalových polymerních fólií.

Propustnost pro vodní páru

Hodnoty propustnosti testovaných fólií jsou znázorněny na Obrázku 3.



Standard – neošetřený vzorek fólie. 10 kGy – vzorek ošetřen dávkou γ-záření 10 kGy. 50 kGy – vzorek ošetřen dávkou γ-záření 50 kGy. HPP – vzorek ošetřený vysokým hydrostatickým tlakem 400 MPa.

Obrázek 8: Propustnost pro vodní páru

Z Obrázku 3 vyplývá vliv γ-záření na propustnost pro vlhkost obalových fólií. U většiny vzorků došlo ke zvýšení propustnosti. Změny byly způsobeny změnou struktury a vlastností polymerních fólií. Zvýšení propustnosti souvisí se změnou mechanických vlastností, snížení maximální síly vede ke zvýšení propustnosti pro vlhkost. Tyto výsledky jsou v souladu s pracemi Mizani, (2009) a Siracusa, (2017). Snížení bariérových vlastností pro vlhkost způsobilo i ošetření vysokým hydrostatickým tlakem u všech vzorků, kromě vzorku č. 1 (PE), ale zvýšení bariérových vlastností nebylo statisticky významné.

Propustnost pro kyslík

Propustnost pro kyslík byla měřena na přístroji Ox-Tran 2/20 u vzorku č. 3 (PP, č. 4 (PPmet) a č. 5 (PP/PE). Vzorky č. 1 (PE), č. 2 (PET), č. 6 (PETmet/PE), č. 7 (PET/Al/PE) a č. 8 (PP/PETmet/PE) byly proměřeny na přístroji LYSSY L100-5000.

U vzorků ošetřených γ-zářením byl zjištěn pokles propustnosti pro kyslík. Důvodem snížení bylo pravděpodobně ovlivnění struktury polymerů, tedy k zesítění ve struktuře (Čurda, 1982). Pouze u vzorku č. 2 (PET) a č. 6 (PETmet/PE) byl zjištěn nárůst propustnosti, tedy zhoršení bariérových vlastnosti pro kyslík. Tyto výsledky nejsou v souladu se studií Jeon a kol., (2004), který nezaznamenal výrazné změny propustnosti pro kyslík pro polymerní fólie na bázi PET a PE po ošetření γ-zářením. U vzorků č. 7 (PET/Al/PE) a č. 8 (PP/PETmet/PE) nebyla zaznamenána změna v propustnosti pro kyslík po ošetření γ-zářením.

Navýšení propustnosti pro kyslík po ošetření vysokým hydrostatickým tlakem bylo zaznamenáno u vzorku č. 2 (PET) a č. 6 (PETmet/PE). Změna v propustnosti u vzorku č. 6 (PETmat/PE) může být způsobena vzájemnými interakcemi mezi makromolekulami polymerů při působení vysokého tlaku a výskytem jevu delaminace. Výsledky propustností fólií na bázi PE/PET jsou v souladu se studií López-Rubio a kol., (2005).

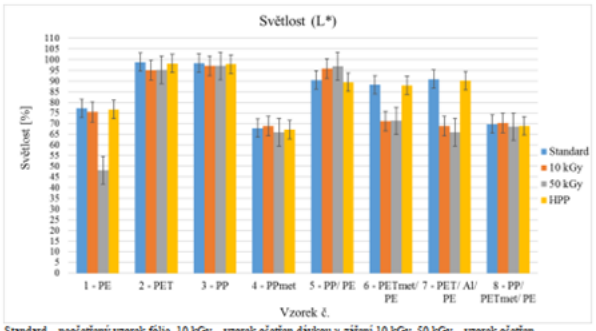
Optické vlastnosti

U testovaných fólií byly sledovány hodnoty změny transmitance po simulaci technologického ošetření v oblasti vlnových délek 300-760 nm a byla změřena hodnota světlosti L^* barevného systému CIE $L^*a^*b^*$.

V rozsahu vlnových délek od 300 do 400 nm byla definována nejvýznamnější oblast změn. Téměř nulové hodnoty transmitance byly naměřeny u vzorků č. 4 (PPmet), č. 6 (PETmet/PE), č. 7 (PET/Al/PE) a č. 8 (PP/PETmet/PE) to značí nepatrnou propustnost pro UV a viditelnou oblast záření. Po aplikaci γ-záření na fólie byla u všech vzorků naměřena vyšší transmitance v oblasti 300-400 nm, kromě vzorku č. 7 (PET/Al/PE), u kterého byla nižší. Změny transmitance u vzorků v UV/VIS oblasti mohou být ovlivněny změnou funkčních vlastnosti nebo delaminací. Získané výsledky korelují s výsledky ve studii Jeon a kol., (2004), která popisuje významné změny transmitance fólií po ozáření.

Fólie ošetřené HPP nevykazovaly významné změny v transmitanci v porovnání s neošetřenou fólií, kromě vzorku č. 2 (PET), u kterého bylo naměřeno významné zvýšení transmitance. Výsledky pro UV/VIS jsou v souladu se studií Ayvaz a kol., (2015), která popisuje minimální změny v transmitanci u fólií podobného typu po ošetření HPP.

Na Obrázku 4 jsou znázorněny výsledky měření světlosti L^* u testovaných fólií.



Standard – neošetřený vzorek fólie. 10 kGy – vzorek ošetřen dávkou γ-záření 10 kGy. 50 kGy – vzorek ošetřen dávkou γ-záření 50 kGy. HPP – vzorek ošetřený vysokým hydrostatickým tlakem 400 MPa.

Obrázek 9: Světlost L*

Nejvýznamnějšímu poklesu světlosti došlo u vzorku č. 1 (PE) po ošetření 50 kGy, pokles byl naměřen i u vzorků č. 6 (PETmet/PE) a č. 7 (PET/Al/PE) u obou hladin ozáření (10 kGy, 50 kGy). U vzorku č. 5 (PP/PE) byly hodnoty po ozáření vyšší. U vzorků č. 2 (PET), č. 3 (PP), č. 4 (PPmet) a č. 8 (PP/PETmet/PE) nebyly změny ve světlosti statisticky významné. Statisticky nevýznamné byly změny světlosti po ošetření fólií vysokým hydrostatickým tlakem.

Celková migrace

Porovnáním celkové migrace u fólií před a po ošetření (γ-záření, HPP) došlo u většiny vzorků k navýšení migrace. Nejvyšší migrace byla zjištěna u vzorku č. 8 (PP/PETmet/PE) po ošetření 10 kGy γ-záření, nejmenší nárůst celkové migrace při stejné dávce záření byl u vzorků č. 1 (PE) a č. 3 (PP). Při ošetření γ-zářením o dávce 50 kGy byl naměřen pokles migrace u vzorku č. 8 (PP/PETmet/PE). Výsledky migrací jsou ve shodě se studií Stoffers, (2004).

Výsledky celkové migrace vzorků ošetřené HPP odpovídají výsledkům Mensitieriho, (2013).

Tloušťka fólie

U všech testovaných fólií došlo vlivem technologického ošetření ke zvýšení tloušťky fólie. U vzorku č. 1 (PE), č. 3 (PP) a č. 8 (PP/PETmet/PE) po ošetření HPP není tato změna statisticky významná.

ZÁVĚR

Z naměřených dat byl prokázán statisticky významný vliv technologického zpracování (γ-záření, vysoký hydrostatický tlak) na změnu funkčních vlastností polymerních fólií. γ-záření ovlivňuje u fólií optické vlastnosti, snižuje maximální sílu potřebnou k přetržení vzorku v podélném i příčném směru, snižuje bariérové vlastnosti pro kyslík i vodní páru, zvyšuje celkovou migraci a transmitanci. Vysoký hydrostatický tlak způsobil snížení maximální síly potřebné k přetržení vzorku v podélném i příčném směru a byly zjištěny statisticky významné změny ($\alpha = 0,05$) bariérových vlastností pro vodní páru a statisticky nevýznamné změny optických vlastností.

LITERATURA

1. Ayvaz H., Balasubramaniam V. M., Koutchma T. 2016. High Pressure Effects on Packaging Materials. In: Balasubramaniam, V., Barbosa-Cánovas, G., Lelieveld, H. (eds) High Pressure Processing of Food. Food Engineering Series. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3234-4_5, str.73-93.
2. Čurda D. 1982. Balení potravin, 1. vyd. Praha SNTL, ISBN 04-832-82.
3. Fellows, P. J. 2009. Food Processing Technology: Principles and Practice, Third Edition., Woodhead Publishing Limited, s462-490, ISBN 978-1-84569-216-2.
4. Jeon D. H., Lee K. H., Park H. J. 2004. The effects of irradiation on physicochemical characteristics of PET packaging film, *Radiation Physics and Chemistry*, 71, str. 1059–1064.
5. López–Rubio A., Lagarón M. J., Hernández–Munoz P., Almenar E., Catalá R., Gavara R., Pascall M. A. 2005. Effect of high pressure treatmens on the properties of EVOH-based food packaging materials, Innovative food science and emerging technologies, 6, str. 51–58.
6. Mensitieri, G., Scherillo, G., Iannace, S. 2013. Flexible packaging structures for high pressure treatments, Innovative *Food Science and Emerging Technologies*, 17, str. 12–21.
7. Mizani M., Sheikh N., Ebrahimi S. N., Gerami A., Tavakoli F. A. 2009: Effect of gamma irradiation on physyco-mechanicalproperties of spice packaging films, *Radiation physics and chemistry*, 78, str. 806–809.
8. Ozen, B. F., FLoros, J. D. 2001. Effects of emerging food processing techniques on the packaging materials, *Food Science & Technology*, 12, str. 60–67.
9. Rahman, M. S. 2007. Handbook of Food Preservation, Second Edition. Taylor & Francis Group, s907-955, ISBN 1-5744-606-1.
10. Siracusa, V., Ingrao, C. 2017. Correlation amongst gas barrier behaviour, temperature and thickness in BOPP films for food packaging usager: A lab-scale testing experience, *Polymer testing*, 59, str. 277–289.
11. Stoffers, N. H., Linssen, P. H., Franz, R., Welle, F. 2004. Migration and sensory evaluation of irradiated polymers, *Radiation Physics and Chemistry*, 71, 2004, str. 203–206.
12. Zenkiewicz M. 2004. Effect of electron-beam irradiation on some mechanical properties of polymer films, *Radiation physics and chemistry*, 69, str. 373–378.

P23

Bariérové vlastnosti obalových materiálů z pohledu propustnosti a sorpce aromatických látek

Barrier properties of packaging materials from the point of view of permeability and sorption of aromatic substances

Lukáš Vápenka, Kateřina Novotná, Eliška Václavíková, Lenka Votavová

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Tato práce se zabývala testováním obalových fólií z pohledu jejich bariérových vlastností vůči aromatickým látkám. Byly testovány obalové fólie vyrobené z nízkohustotního polyethylenu (LDPE), polyethylentereftalátu (PET), polymléčné kyseliny (PLA), polybutylensukcinátu (PBS) a papíru laminovaného vrstvou nízkohustotního polyethylenu (papír/PE) a aromatické látky eukalyptol, thymol, eugenol a vanilin. Byla navržená nová metoda testování, kterou by bylo možné využít pro laboratorní porovnání jednotlivých obalových materiálů. Byly sledovány změny obsahu aromatických látek nanesených na silikagel, který sloužil jako simulant potravinové matrice, v kontaktu s obalovými fóliemi, během 10ti denního skladování při 60 °C. Za nejlepší finální obalový materiál bránící změnám obsahu aromatických látek lze považovat fólii z LDPE, která měla zároveň největší tloušťku. Zjištěný obsah aromatických látek po 10 dnech skladování byl více než 80 %. Byly stanoveny absolutní hodnoty úbytku aromatických látek z matrice při kontaktu s obalovými fóliemi, které byly nejvyšší pro fólii z LDPE (např. 50,8 ± 10,6 g μm m-2 pro eugenol), a naopak nejnižší pro fólii z PET (4,1 ± 1,3 g μm m-2 pro eugenol). Pro stanovení aromatických látek byla využita přímá extrakce isopropanolem a jejich kvantifikace byla provedena pomocí plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem (GC-MS).

Klíčová slova: *bariérové vlastnosti obalů, propustnost, sorpce, aromatické látky*

SUMMARY

This master's thesis deals with examination and comparison of the packaging films in terms of their barrier properties to aromatic compounds. Packaging films made of low-density polyethylene (LDPE), polyethylene terephthalate (PET), polylactic acid (PLA), polybutylene succinate (PBS) and low-density polyethylene coated paper (paper/PE) and aromatic compounds eucalyptol, thymol, eugenol and vanillin were tested. A new method which could be used for laboratory comparison of the packaging films has been proposed. Effectiveness of barrier properties of the packaging films in prevention of aromatic compounds loss from the silica gel, which was used as a food matrix simulant, stored for 10 days at 60 °C was monitored. The LDPE film, which has the largest thickness, can be considered as the best final packaging

material to prevent changes in the content of aromatic compounds. The content of aromatic compounds found after 10 days of storage was more than 80 %. Absolute values for aromatic compounds loss from the food matrix in contact with the packaging films were determined. The highest values were found for LDPE film (50,8 ± 10,6 g μm m^{-2} for eugenol) whereas the lowest values were found for PET film (4,1 ± 1,3 g μm m^{-2} for eugenol). Direct extraction method by isopropanol was used for aromatic compounds extraction. The quantification was performed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

Keywords: *barrier properties of packaging, permeability, sorption, aromatic compounds*

ÚVOD

Hlavní funkcí obalového materiálu je chránit balenou potravinu a zachovat její kvalitu. Znalost bariérových vlastností obalového materiálu je zásadní pro výběr vhodného obalu a zajištění požadované kvality a trvanlivosti balené potraviny. Požadavky na bariérové vlastnosti obalu souvisí také s vlastnostmi baleného produktu. [1,2]

Z hlediska spotřebitelského vnímání kvality většiny potravin jsou klíčovou složkou aromatické látky. Jejich úbytek může vést k významným negativním organoleptickým změnám, ke zkrácené době trvanlivosti, a v důsledku toho i ke snížení přijatelnosti pro spotřebitele. Aromatické látky jsou složité směsi organických těkavých sloučenin, zejména terpenů, esterů, aldehydů, ketonů a alkoholů. Vhledem k jejich komplexnosti jsou jejich interakce s obalovým materiálem mnohem složitější než např. interakce obalového materiálu s molekulami vody a permanentních plynů. Z tohoto důvodu jsou tak často bariérové vlastnosti obalových materiálů studovány a popisovány pro jednu konkrétní aromatickou látku. [1,3,4]

Transport aromatických látek přes obalové materiály je ovlivňován mnoha faktory, mezi které patří vlastnosti obalového materiálu, stejně tak chemické vlastnosti aromatické látky (permeantu), vlastnosti potraviny a podmínky vnějšího prostředí. [5]

V literatuře lze najít omezené množství studií ohledně bariérových vlastností obalových materiálů vůči různým aromatickým látkám. Tato práce se zabývá zkoumáním bariérových vlastností obalových fólií vyrobených z nízkohustotního polyethylenu (LDPE), polyethylentereftalátu (PET), polymléčné kyseliny (PLA), polybutylensukcinátu (PBS) a papíru laminovaného vrstvou polyethylenu (papír/PE) vůči permeaci aromatických látkek eukalyptolu, thymolu, eugenolu a vanilinu, které se v existujících studiích nevyskytují často. Cílem bylo vyvinout metodu, pomocí níž lze relativně jednoduše a v krátkém časovém období laboratorně otestovat a porovnat různé obalové materiály z hlediska jejich schopnosti udržet v balené potravině určité množství aromatických látek.

TESTOVANÉ MATERIÁLY

Testovanými materiály byly obalové fólie vyrobené z LDPE, PET, PLA, PBS a papíru laminovaného vrstvou LDPE (označovaný jako papír/PE). Všechny testované fólie jsou schválené pro kontakt s potravinou a byly vyrobeny v ČR. Jejich další specifikace jsou uvedeny v tabulce 1.

Konkrétní hodnoty teploty skelného přechodu T_g testovaných fólií nejsou známy, proto jsou v tabulce 1 uvedeny, a pro diskuzi výsledků používány, průměrné hodnoty získané z odborné literatury.

Tabulka 5: Specifikace testovaných obalových fólií

Fólie	Tloušťka [µm]	Plošná hmotnost [g m^{-2}]	Tg[a] [°C]
LDPE	104,0	85,8	-110
PET	12,0	16,8	70
PLA	21,0	29,2	55
PBS	16,0	23,6	-30
papír/PE	92,3/11,8	78,3/13,4	–

Testovanými aromatickými látkami byly thymol, eugenol, eukalyptol a vanilin (všechny od výrobce Sigma-Aldrich). Jejich specifikace jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 6: Specifikace testovaných aromatických látek

Aromatická látka	CAS číslo	Chemický vzorec	M_w [g mol^{-1}]	Čistota
eukalyptol	470-82-6	$C_{10}H_{18}O$	154,25	99 %
thymol	89-83-8	$C_{10}H_{14}O$	150,22	≥98,5 %
eugenol	97-53-0	$C_{10}H_{12}O_2$	164,20	99 %
vanilin	121-33-5	$C_8H_8O_3$	152,15	99 %

STANOVENÍ BARIÉROVÝCH VLASTNOSTÍ OBALOVÝCH MATERIÁLŮ VŮČI PRONIKÁNÍ AROMATICKÝCH LÁTEK

Testování výtěžnosti a opakovatelnosti

Výtěžnost a opakovatelnost byla testována pomocí 12 paralelních stanovení. Do skleněné šroubovací vialky o objemu 40 ml byly naváženy 4 g silikagelu a naneseno 500 µl roztoku aromatických látek (směsný roztok eukalyptol+thymol+eugenol, nebo roztok vanilinu). Vialky byly uzavřeny víčkem s teflonovým těsněním a jejich obsah byl řádně protřepán pro homogenní rozptýlení roztoku v silikagelu. Z vialky bylo následně odebráno 3krát po 1 g obsahu do centrifugačních vialek a do každé z nich přidáno 8 ml isopropanolu pro extrakci aromatických látek. Centrifugační vialky byly umístěny do ultrazvukové lázně (5 minut, 20 °C) a následně odstředěny na stolní centrifuze (30 s, 2000 otáček/min). Poté byl ze zkumavek odebrán čirý vzorek a pipetován do vialek o objemu 1,5 ml. Vialky byly umístěny do automatického dávkovače plynového chromatografu vybaveného hmotnostním spektrometrem.

Výtěžnost je vyjádřena procentuálně jako obsah dané aromatické látky, který se podařilo stanovit, vztažený ke známému nanesenému množství na silikagel. Výsledky jsou uváděny jako průměrná hodnota ± SD (%).

Opakovatelnost měření vyjadřuje těsnost shody mezi výsledky po sobě následujících a měřených za stejných podmínek. Opakovatelnost je vyjádřena jako relativní směrodatná odchylka (RSD).

Stanovení úbytku množství aromatických látek ze silikagelu

Do skleněné vialky byl navážen 1 g silikagelu a přidáno 130 µl roztoku aromatických látek (směsný roztok eukalyptol+thymol+eugenol, nebo roztok vanilinu). Vialky byly uzavřeny víčkem a jejich obsah byl řádně protřepán pro homogenní rozptýlení roztoku v silikagelu. Následně byly vialky bez víčka umístěny do termostatu nastaveného na teplotu 60 °C.

Testování probíhalo po 2, 4, 7 a 10 dnech. Testovány byly vždy 3 vzorky v paralelním stanovení. Po vyjmutí z termostatu bylo do každé vialky přidáno 8 ml isopropanolu pro extrakci aromatických látek. Vialky byly uzavřeny víčkem a umístěny do ultrazvukové lázně (5 minut, 20 °C) a následně odstředěny na stolní centrifuze (30 s, 2000 otáček/min). Poté byl ze zkumavek odebrán čirý vzorek a pipetován do vialek o objemu 1,5 ml. Vialky byly umístěny do automatického dávkovače plynového chromatografu vybaveného hmotnostním detektorem.

Výsledky pro úbytek aromatických látek ze silikagelu jsou vyjádřeny procentuálně jako změny v obsahu aromatických látek během skladování. Zjištěný obsah daných aromatických látek byl vztažen ke známému nanesenému množství na silikagel. Výsledky jsou uváděny v grafickém znázornění jako průměrná hodnota s SD (%).

Stanovení úbytku množství aromatických látek ze silikagelu při kontaktu s obalovými fóliemi

Do skleněné krimpovací vialky (20 ml) byl navážen 1 g silikagelu a přidáno 130 µl roztoku aromatických látek (směsný roztok eukalyptol+thymol+eugenol, nebo roztok vanilinu). Vialka byla uzavřena víčkem pomocí elektronického krimpovacího zařízení, v jehož otvoru o ploše 0,67 cm^2 byl vložen vzorek testované fólie (LDPE, PET, PLA, PBS, nebo papír/PE) a utěsněn gumovým septem. Obsah vialky byl řádně protřepán. Vialky byly umístěny dnem vzhůru do stojanu na zkumavky, aby se minimalizovala případná adsorpce aromatických látek na stěny vialky. Stojan s vialkami byl umístěn do termostatu nastaveného na teplotu 60 °C.

Po vyjmutí z termostatu byly vialky otevřeny pomocí elektronického dekrimpovacího zařízení a do každé vialky bylo přidáno 8 ml isopropanolu pro extrakci aromatických látek. Vialky byly znovu uzavřeny víčkem s gumovým septem pomocí elektronického krimpovacího zařízení. Vialky byly poté umístěny do ultrazvukové lázně (5 minut, 20 °C) a následně odstředěny na stolní centrifuze (30 s, 2000 otáček/min). Poté byl ze zkumavek odebrán čirý vzorek a pipetován do vialek o objemu 1,5 ml. Vialky byly umístěny do automatického dávkovače plynového chromatografu vybaveného hmotnostním detektorem.

Testování úbytku množství ze silikagelu eukalyptolu, thymolu a eugenolu pro všechny fólie, a testování vanilinu pro fólie vyrobené z PET a papír/PE probíhalo po 2, 4, 7 a 10 dnech, testování vanilinu pro fólie vyrobené z PLA a PBS po 3, 5, 7 a 10 dnech, a testování vanilinu pro fólii vyrobenou z LDPE po 2, 7 a 10 dnech. Testovány byly vždy 3 vzorky v paralelním

stanovení a 1 slepý vzorek, pro který byla použita hliníková fólie laminovaná PP a PET (PP/Al/PET), kdy PET vrstva byla umístěna dovnitř vialky.

Výsledky jsou vyjádřeny procentuálně jako změny obsahu aromatických látek během skladování v kontaktu s obalovou fólií. Obsah daných aromatických látek byl vztažen ke známému nanesenému množství na silikagel. Dále bylo vypočítáno absolutní množství aromatických látek, které ubylo ze silikagelu při kontaktu s obalovou fólií během skladování, vztažené na tloušťku dané fólie. V absolutním množství byla vypočítána i rychlost úbytku aromatických látek při kontaktu s obalovou fólií. Veškeré výsledky jsou uváděny jako průměrná hodnota ± SD (%).

Kvantifikace obsahu aromatických látek

Kvantifikace obsahu aromatických látek byla provedena metodou externí kalibrace pomocí vícebodových kalibračních křivek. Pro sestrojení kalibračních křivek byla proměřena řada standardních roztoků obsahujících aromatické látky (eukalyptol, thymol a eugenol, nebo vanilin) o koncentracích 10, 50 a 150 $\mu g \cdot ml^{-1}$. Řada kalibračních roztoků byla změřena před každým měřením veškerých vzorků.

Na základě získaných dat byla pro každou aromatickou látku sestavena kalibrační křivka závislosti plochy píku na koncentraci aromatické látky. Zjištěná závislost vykazovala lineární charakter a mohla být dále použita pro výpočet koncentrace aromatických látek.

Instrumentace a podmínky GC-MS

Veškeré vzorky (testování výtěžnosti, opakovatelnosti, úniku aromatických látek ze silikagelu, úbytku aromatických látek při kontaktu s obalovými fóliemi a pro sestrojení kalibračních křivek) byly analyzovány pomocí plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem. Nosným plynem bylo helium o průtoku 1 $ml \cdot min^{-1}$. Teplotní program byl nastaven na teplotu 60 °C po dobu 5 min, následovalo zvyšování o 20 °C/min do 320 °C. Objem nástřiku byl 1 µl v režimu splitless. Detektor byl v režimu TIC od 50 do 450 amu.

Vyhodnocení chromatogramů bylo provedeno pomocí Mass Hunter Qualitative Analysis 10.0. Identifikace jednotlivých analyzovaných aromatických látek byla provedena využitím softwaru MS Search a knihovny spekter NIST14.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výtěžnost a opakovatelnost

V tabulce 3 jsou uvedeny výsledky pro výtěžnost a opakovatelnost testovaných aromatických látek. Výtěžnost pro thymol, eugenol i eukalyptol se pohybovala okolo 90 %, pro vanilin byla výtěžnost o něco nižší. Směrodatná odchylka je u všech látek do 5 %. Nižší výtěžnost může být do určité míry způsobena sorpcí aromatických látek do silikagelu. Dalším důvodem může být menší účinnost použité extrakční techniky. V tomto případě je maximální množství, které lze vyextrahovat, dáno rozdělovacím koeficientem aromatických látek mezi silikagelem a rozpouštědlem. Jelikož jsou testované aromatické látky nepolární, pro extrakci bylo vybráno nepolární rozpouštědlo (isopropanol). Prost a kol. (1993) porovnávali účinnost dvou typů extrakce (simultánní destilace–extrakce a přímá extrakce rozpouštědlem) na výtěžnost několika aromatických látek z modelového roztoku aromatických látek a

ze sušenek. Výtěžnost většiny testovaných aromatických látek pomocí simultánní destilace–extrakce byla 100 % (např. diacetyl, methyl-2-ethylbutyrát, benzaldehyd, limonen, linalool, citral). Výtěžnost vanilinu pomocí přímé extrakce z modelového roztoku byla 84 %, pro linalool 96 % a např. pro limonen 23 %. Výtěžnost ze sušenek byla pro všechny testované aromatické látky nižší ve srovnání s výtěžností aromatických látek z modelového roztoku pro oba použité typy extrakce. [75]

Výsledky pro opakovatelnost jsou v tabulce 3 vyjádřeny jako RSD. Dle získaných výsledků lze soudit, že zvolená technika testování a extrakce je vhodná pro další experimenty, ačkoliv by pro budoucí testování bylo vhodné extrakční techniku vylepšit pro dosažení ještě větších výtěžností aromatických látek.

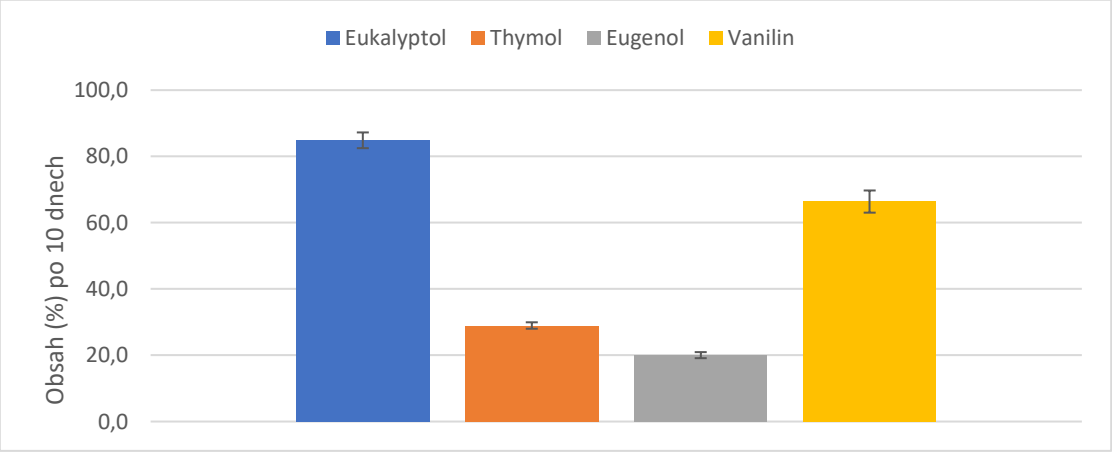
Tabulka 7: Hodnoty výtěžnosti a opakovatelnosti pro thymol, eugenol, eukalyptol a vanilin

	Thymol	Eugenol	Eukalyptol	Vanilin
Výtěžnost [%]	93,8 ± 4,1	89,9 ± 3,6	90,1 ± 3,8	84,2 ± 4,5
RSD [%]	4,4	4,0	4,2	5,3

Úbytek aromatických látek ze silikagelu

Byl proveden experiment pro zjištění a porovnání, která z testovaných aromatických látek má největší potenciál ubývat ze silikagelu. Výsledky procentuálního zůstatku po 10 dnech skladování při 60 °C pro všechny aromatické látky lze vidět na obrázku 1. Počáteční hodnota testování (den 0) je považována za 100 %.

Nejméně ze silikagelu ubýval eukalyptol, jehož zjištěné množství po 10 dnech skladování bylo vyšší než 80 %. Ve větším množství ubýval vanilin, jehož množství po 10 dnech kleslo na 66 ± 3 %. Necelých 30 % bylo zjištěno pro thymol, a nejmenší množství po 10 dnech skladování bylo zjištěno pro eugenol (20 %). Možnou příčinou nízkého úbytku obsahu eukalyptolu může být jeho zadržování v silikagelu či adsorpce na skleněný povrch vialky.



Obrázek 1: Procentuální zůstatek množství eukalyptolu, thymolu, eugenolu a vanilinu naneseného na silikagel v otevřených vialkách po 10 dnech skladování

Úbytek množství aromatických látek ze silikagelu při kontaktu s obalovými fóliemi během skladování

Ve většině studií se pro popis interakcí mezi aromatickými látkami a obalovými materiály stanovují a uvádí koeficienty difúze *D,* rozpustnosti S a propustnosti *P*. V této práci byly sledovány změny obsahu aromatických látek nanesených na silikagel, který sloužil jako simulant potravinové matrice, při kontaktu s obalovými fóliemi během 10ti denního skladování. Na základě použité metody a získaných výsledků nelze s jistotou říci, do jaké míry dané materiály aromatické látky sorbují (proces sorpce) a do jaké míry je propouští do okolního prostředí (proces permeace). Z tohoto důvodu nelze stanovit jednotlivé transportní koeficienty. Pro účely testování v této práci však není rozlišení permeace a sorpce natolik podstatné. Metoda je určená pro přímé porovnání různých obalových materiálů a predikci jejich použití v praxi. Tím největším problémem stále zůstává, že aromatické látky z balené potraviny (v této práci z „balené" matrice) během skladování unikají, čímž se snižuje jejich obsah a v důsledku toho se zhoršují organoleptické vlastnosti balené potraviny. Použití termínů sorpce či permeace v této práci by bylo poněkud zavádějící, proto je diskutován úbytek množství aromatických látek z „balené" matrice (silikagelu) při kontaktu s obalovými fóliemi během skladování.

V tabulce 4 jsou uvedeny výsledky úbytku množství eukalyptolu, thymolu a eugenolu ze silikagelu pro jednotlivé testované obalové fólie. Aby bylo možné přímé srovnání výsledků mezi jednotlivými fóliemi, jsou výsledky vztaženy k odpovídající tloušťce jednotlivých fólií. Výsledky vyjadřují množství aromatických látek, které ubylo ze silikagelu přes materiály po 2, 4, 7 a 10 dnech při kontaktu s obalovou fólií. Z výsledků je patrné, že největší množství aromatických látek ze silikagelu ubylo při kontaktu s LDPE fólií. Důvodem je pravděpodobně nepolární charakter polymeru a aromatických látek, které jsou obecně sorbovány polymery s podobnou polaritou. Získané výsledky jsou ve shodě s výsledky studie autorů Van Willige a kol. (2002), kteří testovali absorpci 10 aromatických látek do různých obalových fólií a zjistili, že celková absorpce aromatických látek byla několikanásobně vyšší do fólií vyrobených z LLDPE a PP, než např. do fólie z PET, což je polymer polárního charakteru. Další vliv na zvýšenou permeaci přes LDPE fólie může mít T_g polymerů. Pro LDPE je hodnota T_g (-100 °C) nižší než byla teplota skladování (60 °C), a tudíž se polymer nachází ve stavu kaučukovitém. Naopak nejlepší bariéru vůči testovaným aromatickým látkám v této práci vykazovala PET fólie. Jedná se o polymer, jehož T_g (70 °C) je vyšší, než byla teplota skladování (60 °C). Polymer PET se tedy nachází ve sklovitém stavu a má tuhý řetězec, tudíž přes/do něj aromatické látky neprochází snadno. [6]

PLA patří mezi alifatické polyestery a některé zdroje uvádí, že má bariérové vlastnosti srovnatelné s PET a PS. Koeficient *P* limonenu pro PLA fólii je nižší než pro PET fólii, a koeficient *P* pro ethylacetát je o něco vyšší ve srovnání s PET fólií. Dle výsledků této práce byl úbytek množství thymolu při kontaktu s PLA fólií zhruba 3krát vyšší než pro PET fólii, a pro eugenol zhruba 4krát vyšší ve srovnání s PET fólií. Zvýšený úbytek aromatických látek při kontaktu s PLA fólií mohl být ovlivněn vztahem mezi teplotou skladování a hodnotou T_g PLA. Jelikož byla teplota skladování (60 °C) blízko T_g PLA (zhruba 55 °C), mohla být PLA blíže ke kaučukovitému stavu a polymerní řetězce PLA mohly být uvolněnější. [7,8]

Výsledky úbytku množství aromatických látek při kontaktu s fólií papír/PE, kdy byla pro výpočet použita tloušťka pouze PE vrstvy, jsou srovnatelné s výsledky získanými pro PET

fólii. Tloušťka PE vrstvy pro výpočet byla použita z důvodu předpokladu, že papír netvoří celistvou vrstvu bez pórů, a aromatické látky tak mají větší možnost úniku přes její strukturu. V porovnání se samotnou LDPE fólií vykazuje fólie papír/PE na základě absolutních hodnot úbytku množství lepší vlastnosti vůči úbytku aromatických látek. Výsledky celkem překvapivě naznačují, že papír v tomto případě poskytl významnou bariéru vůči úbytku aromatických látek. Zjištěné bariérové vlastnosti fólie papír/PE mohou též poukazovat na to, že proces úbytku množství aromatických látek ze silikagelu (potravinové matrice) je ovlivněn především sorpcí do struktury obalového materiálu. V takovém případě budou vykazovat lepší bariérové vlastnosti materiály s menší tloušťkou (vrstvou), jelikož jsou schopny sorbovat nejmenší množství permeantů. [9]

Výsledky úbytku množství aromatických látek při kontaktu s fólií papír/PE, kdy byla pro výpočet použita tloušťka jak PE, tak i papírové vrstvy, jsou téměř srovnatelné s výsledky úbytku množství při kontaktu s LDPE fólií. Hodnota úbytku množství thymolu při kontaktu s fólii papír/PE po 10 dnech skladování je dokonce vyšší ve srovnání s LDPE fólií. Zjištěné výsledky naopak naznačují, že papírová vrstva významnou bariéru vůči úbytku množství aromatických látek ze silikagelu neposkytla. Lze přepokládat, že by samotná PE fólie v tloušťce aplikované na papír vykazovala jiné vlastnosti než ve spojení s papírovou vrstvou.

Nejvyšší hodnoty koeficientu *P* pro eukalyptol byly zjištěny pro LDPE, následovaným PLA, zatímco nejnižší koeficienty *P* pro obě aromatické látky byly zjištěny pro PET a MPET. V této práci byla stejně tak nejvyšší hodnota úbytku množství eukalyptolu zjištěna při kontaktu s LDPE fólií, naopak nejmenší pro PET fólii. Nejnižší koeficienty *P* pro eukalyptol vykazovala PLA, následována PET, a nejvyšší koeficienty *P* byly zjištěny pro PE. Výsledky pro PBS fólii jsou téměř srovnatelné s výsledky získanými pro PLA fólii pro všechny aromatické látky. [10]

Tabulka 8: Absolutní hodnoty úbytku množství eukalyptolu, thymolu a eugenolu ze silikagelu při kontaktu s obalovými fóliemi během skladování

		Absolutní úbytky množství [g µm m^{-2}]			
	Čas (dny)	**2**	**4**	**7**	**10**
Fólie	**Aromatická látka**				
LDPE	**Eukalyptol**	7,9 ± 0,9	20,0 ± 3,8	16,3 ± 9,2	19,4 ± 6,8
	Thymol	12,9 ± 1,7	27,5 ± 4,0	36,7 ± 14,3	45,2 ± 6,6
	Eugenol	15,3 ± 0,4	24,1 ± 2,2	45,4 ± 12,7	50,8 ± 10,6
PET	**Eukalyptol**	1,1 ± 0,0	0,8 ± 0,6	1,8 ± 0,0	0,1 ± 0,0
	Thymol	2,2 ± 0,0	3,6 ± 1,1	5,3 ± 0,8	7,6 ± 1,0
	Eugenol	1,5 ± 0,0	2,4 ± 0,8	1,8 ± 0,9	4,1 ± 1,3
PLA	**Eukalyptol**	3,0 ± 0,0	1,6 ± 0,0	1,8 ± 0,2	0,5 ± 0,0
	Thymol	13,2 ± 2,2	17,2 ± 0,9	22,3 ± 0,6	22,0 ± 1,3
	Eugenol	13,3 ± 2,1	16,1 ± 1,1	20,8 ± 1,1	17,3 ± 2,7
PBS	**Eukalyptol**	0,6 ± 0,1	2,0 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0
	Thymol	10,8 ± 0,5	14,3 ± 0,9	18,9 ± 0,3	19,9 ± 0,6
	Eugenol	9,7 ± 0,6	11,9 ± 1,2	16,8 ± 0,4	15,9 ± 0,9
papír/PE[b]	**Eukalyptol**	0,4 ± 0,2	1,3 ± 0,7	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,2
	Thymol	1,7 ± 0,7	4,4 ± 0,7	7,0 ± 0,4	10,1 ± 1,0
	Eugenol	1,4 ± 0,1	2,9 ± 0,8	4,4 ± 0,6	7,6 ± 0,9
papír/PE[c]	**Eukalyptol**	3,0 ± 1,7	10,1 ± 5,1	12,3 ± 0,9	13,2 ± 1,2
	Thymol	13,0 ± 5,6	34,2 ± 5,3	54,5 ± 3,4	78,8 ± 8,1
	Eugenol	10,9 ± 1,0	22,9 ± 6,5	34,3 ± 4,7	59,7 ± 7,0

[b] pro výpočet byla použita tloušťka PE vrstvy; [c] pro výpočet byla použita tloušťka celé fólie papír/PE

V tabulce 5 jsou uvedeny absolutní hodnoty úbytku množství vanilinu ze silikagelu pro jednotlivé testované obalové fólie. LOQ vyjadřuje limit stanovitelnosti, jehož hodnota pro vanilin byla 0,047 $g \cdot \mu m \cdot m^{-2}$. Výsledky pro kontakt s PET fólií ukazují na nižší úbytek vanilinu ve srovnání s thymolem a eugenolem. Důvodem může být polární charakter PET a nepolární charakter vanilinu, který patří mezi aldehydy, ve srovnání s thymolem a eugenolem, které se řadí mezi polárnější terpenové alkoholy. Dle získaných výsledků v této práci při kontaktu s fólií z LDPE množství vanilinu téměř neubývalo ve srovnání s eukalyptolem, thymolem a eugenolem. V případě úbytku množství eukalyptolu, thymolu a eugenolu se zdá, že papírová vrstva v případě fólie papír/PE (s využitím tloušťky PE vrstvy) poskytla významnou bariéru. Výsledky úbytku množství vanilinu pro fólii papír/PE za využití její celé tloušťky však vykazují významně vyšší hodnoty úbytku množství vanilinu. Výsledky pro fólie vyrobené z PLA a PBS jsou srovnatelné. Hodnoty absolutních hodnot úbytku množství vanilinu ze silikagelu jsou však nižší ve srovnání s úbytkem množství testovaných terpenových alkoholů.

Tabulka 9: Absolutní hodnoty úbytku množství vanilinu ze silikagelu při kontaktu s obalovými fóliemi během skladování

	Absolutní množství úbytku [g µm m^{-2}]			
Čas (dny)	**2**	**4**	**7**	**10**
Fólie				
LDPE	<LOQ	–	3,1 ± 2,0	<LOQ
PET	0,9 ± 0,7	1,0 ± 0,0	3,3 ± 0,3	2,1 ± 1,0
papír/PE[b]	<LOQ	2,7 ± 0,4	0,6 ± 0,1	3,3 ± 1,5
papír/PE[c]	<LOQ	21,1 ± 2,8	5,0 ± 0,9	25,5 ± 11,7
	3	5	7	10
PLA	5,5 ± 0,9	8,0 ± 4,1	6,1 ± 2,7	8,7 ± 2,6
PBS	4,2 ± 1,9	3,8 + 1,6	3,2 ± 1,4	9,7 ± 5,1

[b] pro výpočet byla použita tloušťka PE vrstvy, [c] pro výpočet byla použita tloušťka celé fólie papír/PE

ZÁVĚR

Tato práce se zabývala porovnáním bariérových vlastností pěti obalových fólií (LDPE, PET, PLA, PBS a papír/PE) z hlediska úbytku množství aromatických látek eukalyptolu, thymolu, eugenolu a vanilinu z „balené“ matrice (silikagelu). Cílem bylo vyvinout metodu, pomocí níž lze materiály laboratorně porovnat a ohodnotit z hlediska jejich schopnosti udržení aromatických látek v balené potravině.

Jako simulant potravinové matrice byl zvolen silikagel. Nejprve byla testována výtěžnost a opakovatelnost aromatických látek nanesených na silikagel pomocí přímé extrakce isopropanolem. Výtěžnost aromatických látek se pohybovala okolo 90 %. Pro další testování by bylo vhodné extrakční techniku vylepšit pro dosažení ještě vyšších hodnot výtěžnosti. Z hlediska absolutních hodnot úbytků množství aromatických látek nanesených na silikagel lze za nejlepší materiál bránící změnám jejich obsahu považovat PET fólii. Naopak materiál, pro který byly zjištěny nejvyšší hodnoty úbytku aromatických látek, byla fólie vyrobená z LDPE. Při testování změn obsahu aromatických látek nanesených na silikagel během skladování v kontaktu s obalovými fóliemi byla naopak fólie z LDPE zjištěna jako nejlepší bariéra, pravděpodobně vzhledem k její tloušťce. Byl sledován také průběh úbytku množství aromatických látek a bylo zjištěno, že nejvyšší rychlosti bylo dosaženo během druhého až pátého dne skladování.

Cílem je zachovat co největší množství aromatických látek v balené potravině po celou dobu jejího skladování. Pro účely této práce nebylo tolik podstatné rozlišit proces sorpce do materiálu a permeace přes materiál, ale zajištění udržení co největšího množství aromatických látek v balené potravině („balené“ matrici) během skladování. Pro využití v praxi je pro výběr vhodného obalového materiálu z hlediska jeho bariérových vlastností důležitější brát v úvahu množství aromatických látek, které zůstalo v balené potravině. Jak bylo ukázáno v této práci pro LDPE fólii, důležitým faktorem je tloušťka dané obalové fólie.

Pro přesnější popis bariérových vlastností obalových fólií za využití popsané metody je pro další testování nutná její optimalizace. Vhodné by bylo testovat také sorpci aromatických

látek do obalových fólií. Na základě výsledků by bylo možné rozlišit, jaké množství aromatických látek daná obalová fólie sorbuje do své struktury, a jaké množství propouští do okolního prostředí. Dále by bylo možné připravit dlouhodobější skladovací testy a pozorovat, zda a kdy se dosáhne ustáleného stavu, který v této práci dosažen nebyl. Metoda je relativně jednoduchá a časově nenáročná na přípravu vzorků, avšak přípravou a manipulací se vzorky může být dosaženo určité chyby (nerovnoměrné nanesení roztoku aromatických látek na silikagel, nedostačující rozptýlení roztoku, nedostatečné utěsnění víčka, únik aromatických látek již během manipulace, apod.). Mezi další limitace metody patří využití silikagelu jako potravinové matrice. Silikagel může některé aromatické látky ve větším množství zadržovat, a není tak použitelný pro všechny aromatické látky.

PODĚKOVÁNÍ

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt A1_FPBT_2023_004

LITERATURA

1. Caner, C., Fundamentals of the Sorption (Scalping) Phenomena in Packaged Foods. Reference Module in Food Science, 2017: p. 1-12.
2. Caner, C., Sorption phenomena in packaged foods: factors affecting sorption processes in package–product systems. Packaging Technology and Science, 2011. 24(5): p. 259-270.
3. Dury-Brun, C., et al., Multiple mass transfers of small volatile molecules through flexible food packaging. Food reviews international, 2007. 23(3): p. 199-255.
4. Gavara, R., R. Catalá, and P. Hernández-Muñoz, Study of aroma scalping through thermosealable polymers used in food packaging by inverse gas chromatography. Food Additives & Contaminants, 1997. 14(6-7): p. 609-616.
5. Galić, K., M. Kurek, and M. Ščetar, Barrier properties of plastic polymers. Reference Module in Food Science, 2017: p. 1-21.
6. Klopffer, M. and B. Flaconneche, Transport properties of gases in polymers: bibliographic review. Oil & Gas Science and Technology, 2001. 56(3): p. 223-244.
7. Gremli, H., Flavor changes in plastic containers: A literature review. Perfumer & flavorist, 1996. 21(6): p. 1-8.
8. Naknean, P. and M. Meenune, Factors affecting retention and release of flavour compounds in food carbohydrates. International Food Research Journal, 2010. 17(1): p. 23-34.
9. Nielsen, T. and M. Jägerstad, Flavour scalping by food packaging. Trends in Food Science & Technology, 1994. 5(11): p. 353-356.
10. Piringer, O., Permeation of gases, water vapor and volatile organic compounds, in Plastic Packaging Materials for Food. 2008, Wiley-VCH Verlag GmbH. p. 239-285.

P24

Hodnocení aktivních systémů balení založených na principu sorpce kyslíku

Evaluation of active packaging based on the principle of oxygen sorption

Lukáš Vápenka, Veronika Stryczková, Eliška Václavíková, Lenka Votavová

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Aktivní systémy balení jsou nedílnou součástí, ale současně stále se rozvíjející oblastí obalového a potravinářského průmyslu. Zaměřením této práce byly systémy založené na principu sorpce, konkrétně absorbéry kyslíku. Pro experimentální část byly vybrány tři komerčně dostupné absorbéry s mechanismem sorpce založeným na oxidaci železa a rozdílnou kapacitou sorpce – Oxyfree® 50 a 100 ml, O2O^{TM} 50 ml.

Experimentálně byly ověřeny funkční vlastnosti absorbérů – kapacita a rychlost sorpce. Pro ověření kapacity byly použity čtyři metody s odlišným principem. Vybrané absorbéry splnily hodnotu kapacity deklarovanou výrobcem s velkou rezervou. Dále byla potvrzena funkce absorbérů, a to i pro balení potravin, kdy použitím absorbéru došlo k inhibici oxidace lipidů při balení do neupravené vzdušné atmosféry Rovněž byl vytvořen a otestován výpočetní model pro stanovení potřebné velikosti absorbéru. Pro jeho praktické použití je nutná další optimalizace.

Klíčová slova: *aktivní systémy balení, absorbér kyslíku*

SUMMARY

Active packaging systems form an integral part of the constantly developing packaging and food industry. This thesis focuses on systems based on the principle of sorption, namely oxygen absorbers. For the experimental part, three commercially available absorbers with a sorption mechanism based on iron oxidation and a different sorption capacity – Oxyfree® 50 and 100 ml, O2O^{TM} 50 ml – were selected.

The functional properties of the absorbers – capacity and sorption rate were experimentally verified. Four methods based on different principles were used to verify the capacity. The selected absorbers met the capacity value declared by the producer with a large reserve. The function of absorbers was also confirmed, even for food packaging, when the use of the absorber inhibited the oxidation of fats packaged into air atmosphere A computational model for determining the required absorber size was also created and tested. Further optimization is needed for its use in practise.

Keywords: *active packaging, oxygen absorbers*

ÚVOD

Vývoj v oblasti balení potravin exponenciálně roste, jak ve vědeckých, tak i v průmyslových odvětvích. Důvodů je hned několik – rostoucí populace, redukce obalových materiálů, nové a stále se aktualizující předpisy o bezpečnosti potravin i obalových materiálů, kterým výrobce musí vyhovět. Zároveň je nutné vzít v úvahu požadavky samotného spotřebitele. Změny životního stylu spotřebitelů zvýšily poptávku po potravinách kvalitních, čerstvých nebo minimálně opracovaných, určených k přímé spotřebě, ale zároveň s prodlouženou trvanlivostí. Tento trend v kombinaci s bezpečností potravin, jakožto celosvětovou prioritou, vede k potřebě neustále modernizovat obalové technologie. Snahou obalového průmyslu je tedy nabízet inovativní řešení, která reagují na všechny výše uvedené požadavky. Jedním z nich jsou technologie aktivního a inteligentního balení, které se stále více uplatňují v potravinářském průmyslu.[1,2,3]

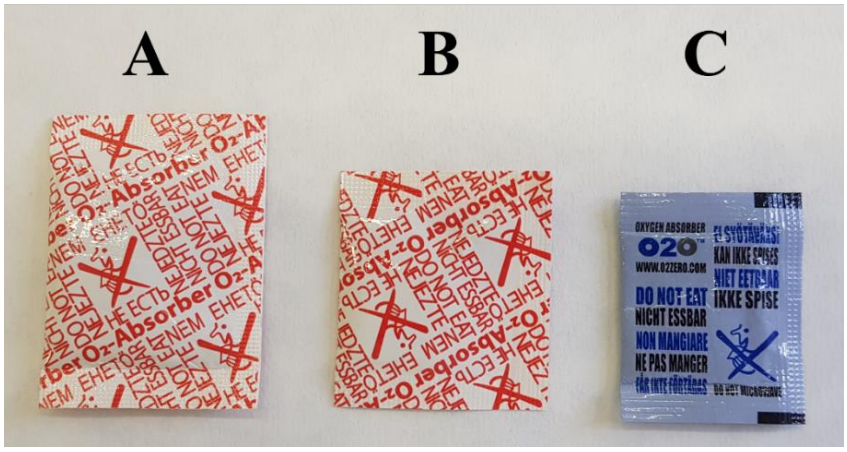
Tato práce se zabývala aktivními systémy balení založenými na principu sorpce (neboli absorbéry), které lze považovat nejrozšířenější a nejprostudovanější oblast aktivního balení. Cílem práce bylo stanovit základní funkční vlastnosti vybraných systémů, ověřit tyto funkční vlastnosti při balení potravin a získané poznatky kriticky zhodnotit s ohledem na aplikaci těchto systémů při balení potravin.

TESTOVANÉ MATERIÁLY

Byly testovány následující vzorky komerčně dostupných absorbérů kyslíku (**obrázek 1**):

- absorbér kyslíku Oxyfree® (Oxyfree®) – kapacita 50 a 100 ml
- absorbér kyslíku O2O™ (O2Zero) – kapacita 50 ml

V obou případech se jednalo o absorbéry ve formě malých sáčků fungující na principu oxidace železa. Absorbéry Oxyfree® byly testovány ve dvou provedeních – s deklarovanou kapacitou sorpce 50 a 100 ml kyslíku. Kapacita druhého testovaného absorbéru O2O™ byla dle výrobce 50 ml. U absorbérů byla ověřována kapacita sorpce a jejich funkce pro balení potravin. Dalším bodem testování bylo vytvoření a ověření modelu pro výpočet potřebné velikosti absorbéru, resp. doby jeho vyčerpání.



Obrázek 10: Vzorky absorbérů kyslíku – Oxyfree® 100 ml (A), Oxyfree® 50 ml (B), O2O™ 50 ml (C)

STANOVENÍ FUNKČNÍCH VLASTNOSTÍ ABSORBÉRŮ

Metoda stanovení kapacity založená na měření změny objemu

Do nádoby naplněné cca třemi litry vody byl umístěn stojan s absorbérem uchyceným pomocí oboustranné lepicí pásky. V případě měření bez obalu absorbéru byla na stojan pomocí adhesiva připevněna Petriho miska s jeho obsahem. Stojan byl přiklopen skleněným odměrným válcem, který byl ponořen pod hladinu vody. Do prostoru válce byla nad hladinu zavedena pružná plastová hadička, pomocí které byla odsátím nastavena hladina na hodnotu stupnice odpovídající 1000 ml. V tomto okamžiku byla hadička zaškrcena a vysunuta z prostoru válce, zároveň byl zaznamenán čas počátku měření. Experiment byl ukončen poté, co se hladina vody ustálila na konstantní hodnotě stupnice – nejméně po 24 h, obvykle po 36–48 h.

Metoda stanovení kapacity založená na měření změny tlaku

Do prázdného exsikátoru byl vložen tlakoměr a sáček absorbéru, případně Petriho miska s jeho obsahem (pro měření bez obalu). Okraje exsikátoru byly namazány „těsnicí vazelínou“ určenou pro těsnění nízkotlakých systémů a exikátor byl ihned uzavřen. Po uzavření exsikátoru byl zaznamenán čas zahájení měření s počáteční hodnotou tlaku (p_0).

Pro stanovení rychlosti sorpce byla opět zaznamenávána hodnota tlaku v daných časových intervalech. Po ustálení tlaku (24–48 h) na konstantní hodnotě, byla tato hodnota zapsána jako konečná (p_k).

Z rozdílu tlaků byla vypočtena kapacita sorpce absorbéru (K) v ml dle následujícího postupu vycházejícího ze stavové rovnice ideálního plynu:

$$n_0 = \frac{p_0 V_e x_{O_2}}{RT}$$

$$n_k = n_0 + \frac{V_e(p_0 - p_k)}{RT}$$

$$V_m = \frac{RT}{p}$$

$$K = (n_0 - n_k)V_{m,}$$

kde n_0, resp. n_k je látkové množství kyslíku na počátku, resp. na konci měření [mol], p_0, resp. p_k je počáteční, resp. konečná hodnota tlaku v exsikátoru s absorbérem [MPa], V_e je celkový objem exsikátoru (včetně poklice) [ml], x_{O_2}je molární zlomek kyslíku ve vzduchu, R je univerzální plynová konstanta [J K^{-1} mol^{-1}], T teplota [K] a V_m je objem 1 molu kyslíku [ml] za laboratorních podmínek – T [K], p [MPa].

Metoda stanovení kapacity založená na měření koncentrace kyslíku

V prvním kroku byl stanoven objem použité PP misky ve třech opakováních. Jak u samotné misky, tak i použité krycí fólie byla rovněž stanovena propustnost pro kyslík.

Popisovanou metodou byly testovány absorbéry Oxyfree® 50 ml a 100 ml. Příslušný absorbér byl vložen do misky, která byla ihned poté zabalena pomocí baličky do „běžné“ neupravené atmosféry. V případě 100ml absorbéru byly připraveny dva vzorky ve třech paralelních měřeních, u kterých bylo měřeno složení atmosféry 2× v průběhu 14 dnů. Pro 50ml

absorbér bylo připraveno pět vzorků ve třech paralelních měřeních, u kterých bylo měřeno složení atmosféry v průběhu čtyř týdnů. V obou případech byly vzorky skladovány za laboratorní teploty (23 °C).

Na základě stanoveného objemu použité misky bylo vypočteno počáteční teoretické množství kyslíku v misce v ml:

$$V_{O_2}(0) = x_{O_2} V_{miska,}$$

kde x_{O_2}je molární zlomek kyslíku ve vzduchu a V_{miska} [ml] je průměrný objem použité misky.

Pro jednotlivé vzorky bylo ze složení atmosféry uvnitř obalu vypočteno tomu odpovídající aktuální množství kyslíku v ml dle vzorce:

$$V_{O_2}(1) = \frac{c_{O_2}}{100} \cdot V_{miska},$$

kde c_{O_2}je naměřená koncentrace kyslíku uvnitř obalu v %. Odečtením $V_{O_2}(1)$ od počátečního množství $V_{O_2}(0)$ byl získán objem kyslíku odpovídající kapacitě použitého absorbéru.

Výpočetní model a jeho ověření

Do výpočetního modelu byly použity stanovené parametry pro vzorky balené do neupravené atmosféry – konkrétně koncentrace kyslíku (21 %), plocha obalu, celkový objem balení, konečná hmotnost balení a objem baleného produktu.

Z naměřených hodnot propustnosti PET-B-PE pro kyslík P_{O_2} [ml m^{-2} den^{-1} 0,1MPa^{-1}] při různých teplotách byla graficky vyjádřena její závislost na reciproké hodnotě teploty [K^{-1}]. Graf závislosti byl proložen exponenciální spojnicí trendu. Ze získané rovnice spojnice trendu byla následně dopočtena hodnota propustnosti při teplotách 5, 10, 15, 20, 25, 30 a 35 °C. Následně byla vypočtena teoretická doba vyčerpání absorbéru D (ve dnech) při skladování za výše uvedených teplot dle následující vzorce:

$$D = \frac{K^* - \frac{(V - V_p)c_{O_2}}{100}}{SP^*_{O_2}},$$

kde K^*je průměrná hodnota kapacity absorbéru stanovena metodou odměrného válce a exsikátoru [ml], V celkový objem balení [ml], V_p objem baleného produktu – těstovin [ml], c_{O_2} koncentrace kyslíku v balení [%], $P^*_{O_2}$ 5× nižší hodnota vypočtené propustnosti při dané teplotě [ml m^{-2} den^{-1} 0,1 MPa^{-1}] a S je plocha balení [m^2].

Pro porovnání byla rovněž vypočtena teoretická doba vyčerpání absorbéru balení produktu s absorbérem (opět pro oba materiály) dle vzorce:

$$D = \frac{K - \frac{(V - m)c_{O_2}}{100}}{SP_{O_2}},$$

kde K je kapacita absorbéru deklarovaná výrobcem [ml] – 100 ml, m konečná hmotnost balení [g] a P_{O_2} je propustnost pro kyslík daného materiálu za podmínek měření (T, RVV) [ml m^{-2} den^{-1} 0,1 MPa^{-1}]. V tomto případě byla použita hodnota propustnosti při 23 °C a 0 % RVV.

Pro ověření výpočetního modelu byly použity zakoupené sáčky z PA-PE. U sáčků byla změřena plocha, tloušťka a propustnost materiálu pro kyslík při teplotě 15, 23 a 28 °C a 90 % RVV. Proložením závislosti P_{O_2} [ml m^{-2} den^{-1} 0,1MPa^{-1}] na $1/T$ exponenciální spojnicí trendu byla získána rovnice, která byla použita pro výpočet propustnosti při teplotě 38 °C.

Dále byla připravena řada vzorků 1–5 se 150 g těstovin pro tři paralelní měření a řada vzorků I–V obsahujících 225 g těstovin opět pro tři paralelní stanovení. Těstoviny byly v daném sáčku rovnoměrně rozprostřeny a po vložení 100ml absorbéru byl sáček pomocí svářečky fólií uzavřen. Takto připravené vzorky byly umístěny do klimakomory s nastavenými podmínkami 38 °C a 90 % RVV. Mimo to bylo připraveno pět vzorků z každé řady, pro které byl změřen objem a hmotnost.

Do rovnic pro výpočet teoretické doby vyčerpání absorbéru byly dosazeny hodnoty parametrů obou typů připravených vzorků. Do rovnice 3.8 byla navíc kromě průměrné naměřené kapacity K^* absorbéru dosazena i kapacita deklarovaná výrobcem (100 ml). A naopak do rovnice byla kromě kapacity dané výrobcem dosazena i K^*. V rovnici 3.9 byla za hodnotu P_{O_2} dosazena dopočtená hodnota pro 38 °C. V získaných časových intervalech bylo následně měřeno složení atmosféry uvnitř obalu.

Z průměru jednotlivých měření v daném čase D byla spočtena teoretická kapacita K_T absorbéru odpovídající aktuálním podmínkám (čas, koncentrace kyslíku):

$$K_T = \frac{(V - V_p)\Delta c_{O_2}}{100} + P^*_{O_2} DS$$

kde Δc_{O_2}je rozdíl mezi koncentrací kyslíku v balení na začátku a v daném čase D.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Před samotným měřením byly stanoveny základní parametry vybraných absorbérů. V tabulce 1 jsou zobrazeny průměrné hodnoty objemu a hmotnosti absorbérů (včetně hmotnosti prášku tvořícího jejich obsah) a také tloušťky a plošné hmotnosti jejich obalu.

Tabulka 1: Základní parametry vybraných absorbérů

Absorbér	Celková hmotnost [g]	Hmotnost obsahu [g]	Objem [ml]	Tloušťka obalu [µm]	Plošná hmotnost obalu [g m^{-2}]
Oxyfree® 100 ml	3,48 ± 0,14	3,03 ± 0,14	4,05 ± 0,13	94,40 ± 0,55	101,43 ± 1,30
Oxyfree® 50 ml	1,89 ± 0,03	1,52 ± 0,03	3,01 ± 0,10	94,40 ± 0,55	106,09 ± 0,76
O2O™ 50 ml	2,30 ± 0,05	2,05 ± 0,10	3,15 ± 0,09	95,53 ± 0,41	89,05 ± 4,60

Metoda stanovení kapacity založená na měření změny objemu

Metoda stanovení kapacity využívající odměrný válec byla převzata od výrobce absorbéru. Principem metody je zvýšení hladiny ve válci vlivem sorpce kyslíku absorbérem umístěným na stojanu uvnitř válce. Mililitry, o které stoupne hladina oproti původní hodnotě, odpovídají kapacitě použitého absorbéru, tj. např. hodnota 900 ml na stupnici válce odpovídá kapacitě 100 ml. V tabulce 2 jsou uvedeny průměrné hodnoty naměřené kapacity pro jednotlivé absorbéry přepočteny na objem válce zmenšený o objem stojanu a samotného absorbéru.

Tabulka 2: Stanovené hodnoty kapacity vybraných absorbérů metodou založenou na změně objemu

Absorbér	Kapacita absorbéru [ml]	
	s obalem	bez obalu
Oxyfree® 100 ml	178 ± 28	165 ± 54
Oxyfree® 50 ml	117 ± 29	178 ± 39
O2O™ 50 ml	168 ± 24	158 ± 20

Z tabulky výsledků je jasně vidět, že u všech testovaných absorbérů byla stanovena kapacita výrazně vyšší než hodnota deklarovaná výrobcem. Ačkoli by se u obou 50ml absorbérů očekávala podobná kapacita sorpce, absorbér O2O™ měl v tomto případě kapacitu srovnatelnou se 100ml absorbérem. Hodnoty směrodatných odchylek potvrdily široký rozptyl výsledků dílčích stanovení. Na hladině významnosti $\alpha = 0{,}05$ byl v případě absorbéru Oxyfree® 50 ml statisticky významný rozdíl mezi měřením v obalu a bez něj. U 100ml však absorbéru nikoli.

Výhodou této metody je především jednoduchost a nenáročnost na použité vybavení. Kapacita absorbéru je získaná přímo, pro konečnou hodnotu nejsou zapotřebí složité výpočty. Omezením metody je fakt, že maximální možná hodnota kapacity je dána objemem odměrného válce, resp. množstvím přítomného kyslíku v odměrném válci o daném objemu. Při použití válce o objemu 1000 ml může být získána kapacita absorbéru maximálně 210 ml (21 % z 1000 ml). Za drobnou nevýhodu lze označit problematické uchycení absorbéru na stojanu a s tím související nutnost opatrné manipulace s odměrným válcem. Důležitou roli, jak bylo potvrzeno i později, hraje v případě této metody zvýšená vlhkost dána přítomností vody v odměrném válci při umístění absorbéru nad její hladinu.

Metoda stanovení kapacity založená na měření změny tlaku

Principem nově navrhnuté metody s exsikátorem je stanovení kapacity z poklesu tlaku způsobeného sorpcí kyslíku absorbérem v uzavřené nádobě se stálým objemem vzduchu. Pro výpočet kapacity z rozdílu tlaků byl použit postup vycházející se stavové rovnice ideálního plynu. Dalším možným postupem je použití přímé úměry, kdy objemu exsikátoru odpovídá počáteční hodnota tlaku a neznámé kapacitě pak rozdíl tlaků. Tento postup výpočtu nebyl použit, neboť počítá s aktuálním tlakem v exsikátoru, což nemusí vždy odpovídat běžným podmínkám používaným pro balení potravin.

Výsledky průměrných hodnot jsou uvedeny v tabulce 3. I v případě této metody byly získané hodnoty kapacit vyšší oproti hodnotám deklarovaným. Absorbér O2O™ byl opět kapacitně blíže 100ml absorbéru. Mezi měřením s obalem absorbéru a bez něj nebyl v tomto

případě statisticky významný rozdíl na hladině významnosti α = 0,05. Rozmezí získaných hodnot kapacit bylo široké, obdobně jako v případě metody s válcem.

Tabulka 3: Stanovené hodnoty kapacity vybraných absorbérů metodou založenou na změně tlaku

Absorbér	Kapacita absorbéru [ml]	
	s obalem	bez obalu
Oxyfree® 100 ml	164 ± 43	152 ± 52
Oxyfree® 50 ml	107 ± 13	101 ± 42
O2O™ 50 ml	140 ± 26	135 ± 12

Nepřímost metody, tzn. nutnost použití výpočtu k získaní kapacity, lze označit jako nevýhodu. Dalším omezením metody jsou možné problémy s těsností systému. Sebemenší netěsnost způsobí přístup kyslíku dovnitř exsikátoru, to pak ovlivní pokles tlaku a tím i hodnotu výsledné kapacity. Za nevýhodu lze rovněž považovat nižší RVV v prostředí exsikátoru (20–40 %) s ohledem na její vliv na konečnou hodnotu kapacity, jak bylo potvrzeno později. Úprava RVV v exsikátoru nalitím vody na dno by s ohledem na přítomnost tlakoměru byla problematická. V porovnání s postupem využívající odměrný válec je tato metoda rovněž náročnější na použité vybavení, které nemusí být v každé laboratoři běžně dostupné. Nicméně samotná příprava aparatury pro měření není tak složitá.

Další výhodou je pak možnost stanovení vyšší kapacity, v porovnání s odměrným válcem o objemu 1000 ml, s ohledem na větší objem exsikátoru. Také zde odpadají možné problémy s chybným odečtem hodnoty díky převrácenému odměrnému válci, neboť v případě exsikátoru je číselná hodnota odečítána přímo z displeje tlakoměru.

Metoda stanovení kapacity založená na měření změny koncentrace kyslíku

Poslední testovanou možností ověření kapacity absorbéru bylo její stanovení na základě měření koncentrace kyslíku v uzavřeném prostoru s absorbérem – PP miska potažená fólií určená k balení potravin. Složení atmosféry bylo měřeno pomocí přístroje Check Mate II, v případě výsledků koncentrace uvedených v procentech se jedná o procenta objemová.

Průměrná hodnota kapacity absorbéru odpovídající koncentraci kyslíku uvnitř obalu (stanovené po 48 h od založení experimentu) činila 167 ± 0 ml pro Oxyfree® 100 ml a 129 ± 0 ml pro Oxyfree® 50 ml. I tato metoda potvrdila, že kapacita obou absorbérů je ve skutečnosti vyšší než hodnota udávána výrobcem.

Koncentrace kyslíku uvnitř obalu klesala s časem z důvodu propustnosti obalu pro kyslík. Lze proto předpokládat, že kapacita absorbéru byla, podobně jako v případě dříve uvedených metod, ještě vyšší.

Pro misku vyrobenou z PP, jakožto z materiálu s vysokou propustností pro kyslík, byla stanovena propustnost > 5 ml miska^{-1} den^{-1} 0,21 MPa^{-1}. Pro krycí fólii byla stanovena hodnota propustnosti 120,2 ± 0,6 ml m^{-2} den^{-1} 0,1 MPa^{-1}. Skrz obal by tedy mělo pronikat značné množství kyslíku. Za předpokladu nejnižší hodnoty propustnosti misky (tj. 5 ml miska^{-1} den^{-1} 0,1 MPa^{-1}), přepočtu propustnosti fólie na konkrétní plochu misky a přizpůsobení obou propustností běžným podmínkám (tj. 5× zmenšena) projde obalem za 8 dní cca 14 ml kyslíku za 27 dní cca 48 ml. Z rozdílů stanovených koncentrací lze spočítat, že za dobu 8 dní byl

v případě 100ml absorbéru zaznamenán přírůstek 12 ml kyslíku za a pro 50ml absorbér 34 ml na 27 dní. Reálný přírůstek se tedy zcela neshodoval s teoretickou propustností obalu pro kyslík, byl nižší, nicméně pro 100ml absorbér byl rozdíl hodnot minimální. Příčinou této nuance mohla být malá změna objemu použité misky způsobená „prohnutím“ krycí fólie vlivem sorpce kyslíku absorbérem. Hlavním důvodem je pravděpodobně vyšší hodnota propustnosti než ta, která byla použita pro výpočet, tj. nejnižší hodnota dána přístrojem – 5 ml miska^{-1} den^{-1} 0,21 MPa^{-1}.

Tabulka 4: Stanovené hodnoty kapacity vybraných absorbérů metodou založenou na změně tlaku

Absorbér	Kapacita absorbéru [ml]	
	s obalem	bez obalu
Oxyfree® 100 ml	169 ± 23	162 ± 13
Oxyfree® 50 ml	112 ± 9	115 ± 18
O2O^{TM} 50 ml	135 ± 36	128 ± 22

ZÁVĚR

Absorbéry kyslíku, jakožto nejrozšířenější ze systémů aktivního balení založených na principu sorpce, byly testovány za účelem ověření funkčních vlastností a funkce pro balení potravin.

Základní funkční vlastností absorbérů obecně je kapacita sorpce. V rámci této práce byla kapacita ověřena pro tři vybrané komerčně dostupné absorbéry (Oxyfree® 50 a 100 ml, O2O^{TM} 50 ml) s pomocí čtyř metod s odlišným principem. Všemi metodami byla stanovena kapacita vybraných absorbérů vyšší oproti hodnotě deklarované výrobcem. Absorbéry tedy disponují určitou rezervou pro případ špatného skladování či manipulace před jejich aplikací do obalu a následným uzavřením.

Při přepočtu na hmotnost absorbéru měly oba 50ml absorbéry kapacitu vyšší než absorbér 100ml. Podobně tomu bylo i v případě druhé funkční vlastnosti – rychlosti sorpce. Absorbér Oxyfree® 50 ml vykazoval vyšší hodnoty v porovnání se 100ml absorbérem téhož výrobce. Po dosažení maxima klesala hodnota rychlosti exponenciálně s časem.

Mezi danými metodami pro stanovení kapacity nebyl na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ statisticky významný rozdíl, nicméně odchylky v rámci jednotlivých metod byly velké. Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší hodnotou kapacity stanovenou danou metodou byl nejvýše 105 %. Každý absorbér má tedy vlastní kapacitu, jejíž konečná hodnota pravděpodobně souvisí s hmotností absorbéru a složením i homogenitou aktivní směsi.

S ohledem na zjištěné výhody a nevýhody se nejvíce použitelnou metodou stanovení kapacity jeví způsob založený na měření změny objemu v odměrném válci. Novou metodu založenou na měření poklesu tlaku uvnitř exsikátoru lze rovněž označit za prakticky použitelnou, nicméně musí být během celého stanovení zajištěna těsnost systému. Použití metody založené na měření změny hmotnosti absorbéru omezuje významný vliv vlhkosti prostředí, ve kterém je stanovení prováděno. Metodu založenou na měření koncentrace kyslíku v uzavřeném prostou lze také využít pro stanovení kapacity, je však nutné vzít v úvahu propustnost pro kyslík daného systému.

PODĚKOVÁNÍ

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt A1_FPBT_2023_004

LITERATURA

1. Cruz, R. S., Soares, N. de F. F., Andrade, N. J. de (2007):. Efficiency of Oxygen: Absorbing Sachets in Different Relative Humidities and Temperatures. Cienc. Agrotecnol, 31, 1800–1804.
2. Dobiáš, J., Votavová, L., Vápenka, L. (2019): Balení potravin, 1. vydání.; VŠCHT: Praha.
3. Charles, F., Sanchez Marcano, J., Gontard, N. (2006): Absorption Kinetics of Oxygen and Carbon Dioxide Scavengers as Part of Active Modified Atmosphere Packaging. J. Food Eng., 72, 1–7.

P25

Vliv technologického opracování potravin na obsah, degradaci a uvolňování IAS, NLS a NIAS u materiálů určených pro kontakt s potravinami

Effects of technological processing of food on the content, degradation and release of IAS, NLS and NIAS in food contact materials

Lenka Votavová, Eliška Václavíková, Lukáš Vápenka, Tereza Sedlářová

Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie,
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha – Dejvice

SOUHRN

Práce se zabývá vlivem různých způsobů technologického opracování (tepelné opracování, mikrovlnný ohřev, gama záření a vysoký hydrostatický tlak) na obsah, degradaci a uvolňování záměrně přidaných látek (IAS), látek neuvedených na seznamu Nařízení Komise (EU) č. 10/2011 (NLS) a nezáměrně přidaných látek (NIAS) u tří polymerních materiálů určených pro kontakt s potravinami (BOPP/LDPE a PVC fólie, PP miska). Původní neošetřené materiály a materiály ošetřené technologickým opracováním byly extrahovány do vybraných organických rozpouštědel a extrakty byly analyzovány pomocí plynové chromatografie (GC-MS). Identifikace nalezených látek IAS, NLS a NIAS byla provedena pomocí softwaru MSD ChemStation a knihovny hmotnostních spekter NIST14. U identifikovaných látek byl vypočítán jejich obsah a teoretická úroveň jejich migrace. Na základě provedených analýz a statistického vyhodnocení výsledků byl u všech testovaných materiálů prokázán určitý vliv technologického opracování na změny obsahů, degradaci a uvolňování IAS, NLS a NIAS. Tepelné opracování mělo významný vliv například na snížení obsahu antioxidantu Irgafosu 168 u BOPP/LDPE fólie a PP misky. Gama záření způsobilo úplnou degradaci antioxidantu Irgafosu 168 u BOPP/LDPE fólie a částečnou degradaci změkčovadel u PVC fólie. Vypočítané teoretické hodnoty specifických migrací IAS, NLS a NIAS byly u všech ošetřených materiálů vyšší než u neošetřených, přičemž nejvyšší byla u materiálů ošetřených gama zářením.

Klíčová slova: *PP, BOPP/LDPE, PVC, tepelné opracování, mikrovlnný ohřev, vysoký hydrostatický tlak, gama záření, IAS, NLS, NIAS, migrace, změkčovadlo, antioxidant*

SUMMARY

The work deals with the influence of various technological processing methods (heat treatment, microwave heating, gamma irradiation and high hydrostatic pressure) on the content, degradation and release of intentionally added substances (IAS), substances non-listed in Commission Regulation (EU) No 10/2011 (NLS) and non-intentionally added substances (NIAS) of three polymer food contact materials (BOPP/LDPE and PVC film, PP bowl). Original untreated materials and materials treated with technological processing were extracted into selected organic solvents and the extracts were analysed using gas chromatography

(GC-MS). Identification of the IAS, NLS and NIAS substances found was carried out using the MSD ChemStation software and the NIST14 mass spectra library. For the identified substances, their content and the theoretical level of their migration were calculated. Based on the performed analyses and statistical evaluation of the results, some influence of technological processing has been demonstrated in all tested material on changes in contents, degradation and release of IAS, NLS and NIAS. The heat treatment had a significant effect, for example, on reducing the content of the antioxidant Irgafos 168 in the BOPP/LDPE film and PP bowl. Gamma irradiation caused complete degradation of the antioxidant Irgafos 168 in the BOPP/LDPE film and partial degradation of the plasticizers in the PVC film. The calculated theoretical values of the specific migrations of IAS, NLS and NIAS were higher for all treated materials than for untreated ones, with the highest for those treated with gamma irradiation.

Keywords: *PP, BOPP/LDPE, PVC, heat treatment, microwave heating, high hydrostatic pressure, gamma irradiation, IAS, NLS, NIAS, migration, plasticizer, antioxidant*

ÚVOD

U řady potravinářských výrobků je obal nezbytnou funkční součástí výrobku a je vystaven technologickému opracování současně s potravinou. Příkladem mohou být tepelně opracované potraviny, potraviny konzervované elektromagnetickými druhy záření, vysokým hydrostatickým tlakem apod. Používané technologické operace mají vliv nejen na potravinu a její obal, ale i na interakce mezi obalem a potravinou. Pro výběr obalového materiálu a konstrukci obalu pro konkrétní typ potraviny je velmi důležité znát nejen jeho funkční vlastnosti, ale i jeho případné změny ve struktuře a složení během technologickém opracování a v průběhu skladování balené potraviny. Technologické opracování může také způsobit degradaci přídatných látek a vznik nových látek (kontaminantů) v obalech potravin a ovlivnit schopnost uvolňování, resp. migraci nízkomolekulárních složek (monomerů a oligomerů, změkčovadel, antioxidantů, světelných stabilizátorů apod.) z obalu do potraviny.

Látky obsažené v obalech potravin se tradičně rozdělují do tří kategorií IAS, NLS a NIAS. IAS (intentionally added substances) jsou záměrně přidané látky, které výrobce cíleně použil během výroby [1]. Příkladem jsou monomery (základní stavební jednotky výsledných polymerů, např. ethylen, propylen, vinylchlorid apod.), přídatné látky zlepšující vlastnosti obalového materiálu (barviva, katalyzátory iniciujících polymeraci, rozpouštědla a další). NLS (non-listed substances), jsou látky, které mohou být použity, ale nejsou uvedeny na seznamu Nařízení Komice (EU) č. 10/2011. NIAS (non-intentionally added substances) jsou látky přidané neúmyslně/nezáměrně [2, 3]. Výrobce je nepoužil cíleně, ale přesto se v obalových materiálech nacházejí. NIAS můžou pocházet z různých zdrojů, lze je rozdělit do několika skupin: produkty degradace, nečistoty vstupních látek, nově vzniklé látky a kontaminanty. Při posuzování zdravotní závadnosti nebo nebezpečnosti těchto látek se vychází z hraniční hodnoty molekulové hmotností 1000 Da. Tato hranice byla volena s ohledem na resorpci látek z trávicího traktu, kdy látky s vyšší molekulovou hmotnostní nejsou resorbovány. Z tohoto důvodu je při testování obalů pro potraviny zaměřena pozornost na látky s molekulovou hmotností stejnou nebo nižší [4].

MATERIÁLY A METODY

Testované materiály

Byly testovány tři materiály určené pro kontakt s potravinami: biaxálně orientovaná polypropylenová fólie s vrstvou polyethylenu o nízké hustotě (BOPP/LDPE) (tloušťka 56 μm), polyvinylchloridová fólie (PVC) (tloušťka 16 μm) a polypropylenová (PP) jednorázová miska na polévku (objem 350 ml, možnost použití deklarované výrobcem: 70 °C max. 2 h, 100 °C max. 15 min, mikrovlnný ohřev 700 W 5 minut).

Ošetření testovaných materiálů

BOPP/LDPE a PVC fólie byly vystaveny účinku tepelného opracování, vysokého hydrostatického tlaku a gama záření. PP miska byla vystavena účinku tepelného opracování a mikrovlnného ohřevu. Souhrn podmínek ošetření je uveden v Tabulce 1.

Simulace tepelného opracování (termopasterace s uplatněním kondukce) byla provedena v termostatu na Ústavu konzervace potravin VŠCHT Praha. BOPP/LDPE a PVC fólie byly vystaveny teplotě 70 °C po dobu 30 minut. PP jednorázové misky na polévku byly zahřáty na teplotu 70 °C po dobu 2 hodin a 100 °C po dobu 15 minut, tak jak výrobce deklaroval na jejich obalu.

Ošetření BOPP/LDPE a PVC fólií vysokým hydrostatickým tlakem bylo provedeno ve Výzkumném ústavu potravinářském Praha. Fólie byly smotány do tvaru ruliček, umístěny do polypropylenového sáčku, který byl naplněn vodou, svařen a následně umístěn do válcové komory izostatického lisu CYX 6/0103. Komora byla napuštěna vodou o teplotě 21,7 °C a vystavena vysokému hydrostatickému tlaku o 400 MPa po dobu 20 minut. Maximální tlak, kterého lis dosáhl, byl 408,4 MPa. Minimální dosažený tlak činil 394,3 MPa. Teplota na konci ošetření byla 18,5 °C. Po ošetření byly fólie skladovány při laboratorní teplotě.

Ošetření BOPP/LDPE a PVC fólií gama zářením bylo provedeno v Ústavu jaderného výzkumu Řež. První série fólií byla vystavena gama záření kobaltového zdroje, při teplotě 20±1 °C dávkovým příkonem 0,36 kGy/h, o celkové absorbované dávce 10,4±0,4 kGy, druhá série dávce 50,5±2,0 kGy a třetí série dávce 103,2±4,0 kGy. Po ozáření byly fólie skladovány při laboratorní teplotě.

Ošetření mikrovlnným ohřevem bylo provedeno na Ústavu konzervace potravin, VŠCHT Praha. PP jednorázové misky na polévku byly ošetřeny při výkonu 700 W po dobu 5 minut, tak jak výrobce deklaroval na jejich obalu.

Tabulka 10: Podmínky ošetření materiálů

Materiál	Způsob ošetření	Podmínky
BOPP/LDPE fólie PVC fólie	Tepelné opracování	70 °C/30 min
	HPP	400 MPa/20 min
	Gama záření	10, 50, 100 kGy
PP miska	Tepelné opracování	100 °C/15 min; 70 °C/2 h
	Mikrovlnný ohřev	700 W/5 min

Extrakce testovaných materiálů

Ošetřené a neošetřené BOPP/LDPE a PVC fólie a PP misky byly nastříhány na části o velikosti 2 × 2 mm. Do 250 ml varných baněk s kulatým dnem byl navážen 1 g nastříhaných fólií a misky a přidáno 50 ml extrakčního činidla (methanolu u BOPP/LDPE fólie a PP misky nebo dichlormethanu u PVC fólie). Extrakce testovaných materiálů probíhala 1 h pod zpětným chladičem. Po ukončení extrakce byly extrakty zfiltrovány do 250 ml kulatých varných baněk a odpařeny do sucha na rotační vakuové odparce při teplotě 40 °C. K odparkům byly přidány 2 ml methanolového nebo dichlormethanového roztoku vnitřního standardu dipentyl-ftalátu o koncentraci 20 μg/ml. Směsi byly postupně nastříknuty na kolonu plynového chromatografu a analyzovány za níže uvedených podmínek. Pro každý materiál byly připraveny tři paralelní stanovení a slepý pokus (50 ml extrakčního činidla).

Stanovení specifické migrace

Ošetřené a neošetřené PP misky byly naplněny 250 ml potravinového simulantu (95% ethanol – odpařitelná náhrada potravinového simulantu D2 – rostlinného oleje), zakryty Petriho miskami a umístěny do termostatu. Migrační testy byly provedeny při teplotě 40 °C po dobu 10 dnů. Po ukončení migrace byl potravinový simulant z PP misek slit do 250 ml kulatých varných baněk a odpařen do sucha na rotační vakuové odparce při teplotě 40 °C. K odparkům byly přidány 2 ml methanolového roztoku vnitřního standardu dipentyl-ftalátu o koncentraci 20 μg/ml. Směsi byly postupně nastříknuty na kolonu plynového chromatografu a analyzovány za níže uvedených podmínek. Pro každou misku byly připraveny tři paralelní stanovení a založen slepý pokus (250 ml 95% ethanolu).

Podmínky plynové chromatografie

Analýzy na plynovém chromatografu vybaveném hmotnostním detektorem probíhaly za těchto podmínek: plynový chromatograf Agilent 6890, detektor: Agilent 5973N, kvadrupólový hmotnostní spektrometr, ionizace elektrony 70 eV, spektrum snímáno v režimu TIC; teplota 280 °C.; kapilární kolona DB-5 (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm); mobilní fáze He, průtok 0,6 ml/min, nástřik 1 μl splitless pro BOPP/LDPE fólii a PP misky, nástřik 1 μl split 1:50 pro PVC fólii; teplota 300 °C; teplota kolony: 70 °C pět minut, zvyšování 15 °C/min do 300 °C, 300 °C do konce analýzy.

Identifikace a kvantifikace extrahovaných a migrovaných látek

Identifikace extrahovaných a migrovaných látek u BOPP/LDPE, PVC fólií a PP misek byla provedena pomocí chromatografického softwaru MSD ChemStation a knihovny hmotnostních spekter NIST14. Obsah identifikovaných látek po extrakci, hodnoty teoretických a naměřených specifických migrací identifikovaných látek byly vypočítány semikvantitativně za použití vnitřního standardu dipentyl-ftalátu.

Použité statistické metody

K vyhodnocení rozdílů mezi neošetřenými a ošetřenými BOPP/LDPE, PVC fóliemi a PP miskami byla použita analýza rozptylu ANOVA, na hladině významností $\alpha = 0,05$, provedená v programu MS Excel 2016 (Microsoft, USA).

Vyjádření výsledků

Všechna měření (extrakce i migrační testy) byla provedena ve třech paralelních stanoveních a výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka. Obsahy identifikovaných látek po extrakci z BOPP/LDPE, PVC fólií a PP misek jsou vyjádřeny v miligramech vyextrahované látky na gram nebo kilogram fólie nebo misky (mg/g nebo mg/kg). Hodnoty teoretických specifických migrací identifikovaných látek u BOPP/LDPE a PVC fólií a naměřených specifických migrací identifikovaných látek u PP misky jsou vyjádřeny v miligramech látky na jeden kilogram potravinového simulantu (mg/kg).

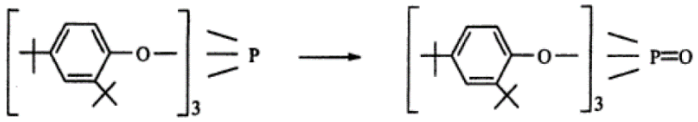
VÝSLEDKY A DISKUSE

BOPP/LDPE fólie

U BOPP/LDPE fólie byl sledován vliv tepelného opracování (70 °C, 30 minut), vysokého hydrostatického tlaku (400 MPa, 20 minut) a gama záření (10 kGy, 50 kGy, 100 kGy) na obsah, degradaci a uvolňování IAS, NLS a NIAS.

U neošetřené BOPP/LDPE fólie bylo identifikováno a kvantifikováno celkem sedm látek: nasycené alifatické uhlovodíky C8–C25, alifatické aldehydy C8–C14, nenasycený uhlovodík 3-hexadeken, tris(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfit (CAS č. 31570-04-4), tris(2,4-di-*terc*-butyl-fenyl)-fosfát (CAS č. 95906-11-9), kyselina ftalová (CAS č. 88-99-3), anhydrid kyseliny ftalové (CAS č. 85-44-99).

Významnými z hlediska obsahu byly v extraktu neošetřené BOPP/LDPE fólie dvě látky tris(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfit (Irgafos 168) a tris(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfát. První z nich je uvedena v pozitivním seznamu Nařízení Komise (EU) č. 10/2011 bez specifického migračního limitu (SML), druhá v seznamu uvedena není a je tedy považována za neautorizovanou látku. Irgafos 168 se běžně používá u polyolefinů jako antioxidant. Tris(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfát je patrně látka NIAS, která vzniká degradací resp. oxidací Irgafosu 168 [5]. Degradace antioxidantu Irgafosu 168 na tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfát byla popsána ve studii Deschênes a kol. a je zobrazena na Obrázku 1 [6]. Studie byla provedena na HDPE fólii, ale vzhledem k přítomnosti obou těchto látek v testované BOPP/LDPE fólii lze předpokládat, že došlo ke stejné degradaci.



Obrázek 1: Vznik degradačního produktu tris(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfát z tris(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfitu [6].

Vlivem tepelného opracování došlo ke statisticky významným změnám obsahu antioxidantu Irgafosu 168 a jeho degradačního produktu tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfátu. Obsah antioxidantu Irgafosu 168 se snížil o 44 % a obsah degradačního produktu Irgafosu se snížil o 8 %.

Vlivem ošetření vysokým hydrostatický tlakem (HPP) došlo také ke statisticky významným změnám obsahu antioxidantu Irgafosu 168 a degradačního produktu Irgafosu 168. Obsah antioxidantu Irgafosu 168 se zvýšil o 87 % a obsah degradačního produktu Irgafosu 168

o 2 %. U HPP ošetřené BOPP/LDPE fólie nebyly identifikovány alifatické aldehydy (C8–C14), kyselina ftalová ani její anhydrid, došlo ale ke zvýšení obsahu alifatických uhlovodíků (C8–C25) z hodnoty 30,3±0,1 mg/g fólie na hodnotu 31,3±0,9 mg/g fólie.

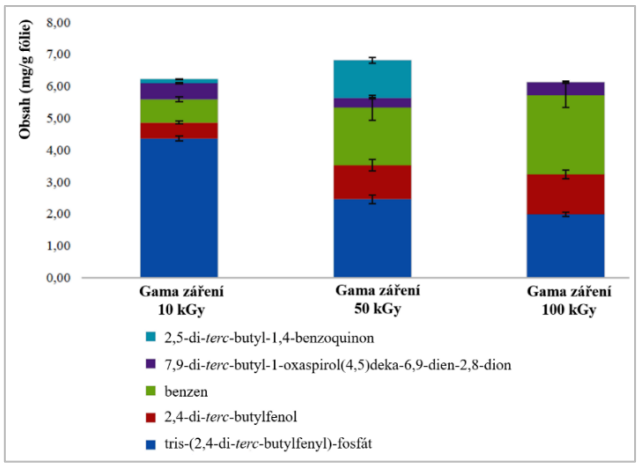
U fólie ošetřené gama zářením o dávce 10 kGy, což je legislativně povolená dávka ke konzervaci potravin, nebyl identifikován antioxidant Irgafos 168, který pravděpodobně degradoval na tyto identifikované látky: tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfát, 2,4-di-*terc*-butylfenol (CAS č. 96-76-4), 3,5-di-*terc*-butyl-4-hydroxybenzaldehyd (CAS č. 1620-98-0), 7,9-di-*terc*-butyl-1-oxaspiro(4,5)deka-6,9-dien-2,8-dion (CAS č. 82304-66-3), 2,5-di-*terc*-butyl-1,4-benzoquinon (CAS č. 2460-77-7). Ani jedna z těchto látek není uvedena na pozitivním seznamu Nařízení Komise (EU) č. 10/2011 a mohou být považovány za NIAS. 2,4-di-*terc*-butylfenol označovaný také jako Prodox 146 není sice uveden v seznamu jako samostatná látka, ale v seznamu jsou uvedeny látky, jejichž struktura má navázanou jednu nebo více 2,4-di-*terc*-butylfenolých skupin. Příkladem je i výše popsaný tris(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfit. Vznik výše uvedených degradačních produktů z antioxidantu Irgafos 168 vlivem nízkých dávek gama záření popsali u PP a LLDPE fólií ve svých studiích Krzymien a kol., Celiz a kol., Alin a Hakkarainen a Bourges [7, 8, 9, 10, 11]. Dalšími látkami identifikovanými u BOPP/LDPE fólie ošetřené gama zářením o dávce 10 kGy byly: benzen, 3-hexadeken, kyselina ftalová, alifatické aldehydy (C8–C14) a uhlovodíky (C8–C25). Obsah uhlovodíků významně poklesl z hodnoty 30,3±0,1 mg/g na hodnotu 24,0±2,4 mg/g, obsah aldehydů naopak vzrostl z 0,06±0,01 mg/g na 0,41±0,05 mg/g.

U BOPP/LDPE fólie ošetřené vyššími dávkami záření 50 kGy a 100 kGy došlo ke změnám (zvýšení, snížení) obsahů identifikovaných látek a ke tvorbě dalších nových degradačních produktů v porovnání s BOPP/LDPE fólií ošetřenou dávkou 10 kGy.

Vlivem ošetření dávkou 50 kGy se například obsah degradačního produktu Irgafosu 168 tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfátu v porovnání s ošetřením dávkou 10 kGy snížil o 55 %, obsah 2,4-di-*terc*-butylfenolu zvýšil o 115 % a obsah oxaspiro sloučeniny 7,9-di-*terc*-butyl-1-oxaspiro(4,5)deka-6,9-dien-2,8-dion se snížil o 39 %. Vlivem zvýšené dávky gama záření došlo k tvorbě anhydridu kyseliny maleinové, který vlivem působení dávky 10 kGy nevznikal.

Vlivem ošetření dávkou 100 kGy došlo k tvorbě dalších degradačních produktů, které nižšími dávkami nevznikaly. Podobně jako u dávky 50 kGy došlo ke změně obsahu identifikovaných látek. Identifikovanou látkou, která vznikala pouze při působení dávky 100 kGy byl 1,3-dioxolan (CAS č. 646-06-0).

Na Obrázku 2 jsou znázorněny změny obsahů vzniklých degradačních produktů BOPP/LDPE fólie ošetřené různými dávkami gama záření.



Obrázek 2: Změny obsahů vzniklých degradačních produktů u BOPP/LDPE fólie ošetřené různými dávkami gama záření

V Tabulce 2 je uveden přehled identifikovaných a kvantifikovaných látek v extraktech neošetřené a ošetřené BOPP/LDPE fólie a na Obrázku 3 je graficky znázorněn vliv technologického opracování BOPP/LDPE fólie na obsah antioxidantu Irgafos 168 a jeho degradačního produktu tris-(2,4-*terc*-butylfenyl)-fosfátu.

Tabulka 2: Přehled identifikovaných a kvantifikovaných látek v extraktech neošetřené a ošetřené BOPP/LDPE fólie

Identifikované látky	Obsah (mg/g fólie)					
	Neošetřená fólie	Tepelné opracování 70 °C/30 min	HPP 400 MPa/20 min	Gama záření 10 kGy	Gama záření 50 kGy	Gama záření 100 kGy
kyselina ftalová	0,060 ± 0,006	0,024 ± 0,001	ND	0,033 ± 0,001	ND	ND
anhydrid kyseliny ftalové	0,094 ± 0,009	0,044 ± 0,003	ND	ND	ND	ND
3-hexadeken	0,031 ± 0,003	0,018 ± 0,001	ND	0,038 ± 0,003	ND	ND
Irgafos 168	1,107 ± 0,058	0,617 ± 0,055	2,072 ± 0,171	ND	ND	ND
tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfát	5,430 ± 0,141	4,998 ± 0,174	5,310 ± 0,339	4,356 ± 0,082	2,458 ± 0,139	1,985 ± 0,065
uhlovodíky (C8–C25)	30,321 ± 0,113	30,651 ± 0,653	31,304 ± 0,907	23,952 ± 2,351	30,813 ± 5,084	45,734 ± 14,853
aldehydy (C8–C14)	0,056 ± 0,005	0,035 ± 0,003	ND	0,412 ± 0,019	ND	ND
2-propyl-1-pentanol	ND	ND	0,020 ± 0,002	ND	ND	ND
3-hexadeken	ND	ND	0,642 ± 0,025	ND	ND	ND
7,9-di-*terc*-butyl-1-oxaspiro(4,5)deka-6,9-dien-2,8-dion	ND	ND	ND	0,503 ± 0,021	0,306 ± 0,022	0,403 ± 0,027
2,5-di-*terc*-butyl-1,4-benzoquinon	ND	ND	ND	0,129 ± 0,012	1,176 ± 0,085	ND
2,5-cyclohexadien-1,4-dion	ND	ND	ND	0,282 ± 0,010	0,317 ± 0,009	0,173 ± 0,030
2,4-di-*terc*-butylfenol	ND	ND	ND	0,495 ± 0,045	1,064 ± 0,171	1,252 ± 0,136
3,5-di-*terc*-butyl-4-hydroxybenzaldehyd	ND	ND	ND	0,086 ± 0,004	ND	ND
benzen	ND	ND	ND	0,735 ± 0,075	1,801 ± 0,386	2,479 ± 0,396
2,5-furandion (maleinanhydrid)	ND	ND	ND	ND	0,101 ± 0,025	0,083 ± 0,029
1,3-dioxolan	ND	ND	ND	ND	ND	0,089 ± 0,030

Poznámky k Tabulce 2:

Hodnoty obsahu identifikovaných látek jsou vyjádřeny ve tvaru aritmetického průměru ze tří paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.

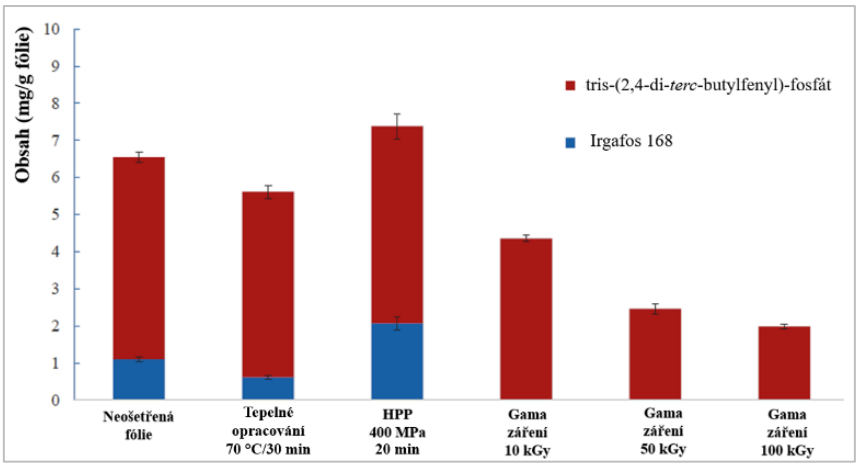
ND – pod limitem detekce, respektive látka neměla signál větší než trojnásobek šumu.

Limit detekce (tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfitu byl 0,34 mg/kg.

Irgafos 168 – tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfit.

HPP – vysoký hydrostatický tlak.

kGy – jednotka gama záření, 1 kilogray = 1000 J/kg.



Obrázek 3: Vliv technologického opracování u BOPP/LDPE fólie na obsah antioxidantu Irgafosu 168 a jeho degradačního produktu tris-(2,4-*terc*-butylfenyl)-fosfátu

U neošetřené a ošetřené BOPP/LDPE fólie byly z průměrných hodnot obsahů identifikovaných látek v extraktech (viz Tabulka 2) pro nejhorší možný případ, tj. že by migrovalo 100 % identifikovaných látek vypočítány teoretické hodnoty specifických migrací. Výsledky v mg látky uvolněné do 1 kg potravinového simulantu (mg/kg) jsou uvedeny v Tabulce 3. Z hodnot v Tabulce 3 je patrné, že hodnoty migrace identifikovaných látek překračují jak legislativně stanovené specifické migrační limity (SML), tak požadavek na dodržení celkového migračního limitu, tj. 60 mg/kg uvedený v Nařízení Komise (EU) č. 10/2011 [2, 3]. Z vypočítaných teoretických hodnot specifických migrací není však možné vyvodit závěr týkající se zdravotní závadnosti nebo nebezpečnosti testované BOPP/LDPE fólie. Pro získání relevantních výsledků migračních parametrů by bylo nutné provést migrační testy za použití podmínek, které odpovídají způsobu výroby a skladování balené potraviny.

Tabulka 3: Teoretické hodnoty specifické migrace u neošetřené a ošetřené BOPP/LDPE fólie

Identifikovaná látka	Teoretické hodnoty specifické migrace (mg/kg potravinového simulantu)					
	Neošetřená fólie	Tepelné opracování 70 °C/30 min	HPP 400 MPa	Gama záření 10 kGy	Gama záření 50 kGy	Gama záření 100 kGy
kyselina ftalová	2,11	0,84	ND	1,17	ND	ND
anhydrid kyseliny ftalové	3,32	1,57	ND	ND	ND	ND
3-hexadeken	1,10	0,63	22,76	1,36	ND	ND
Irgafos 168	39,23	21,86	73,43	ND	ND	ND
tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfát	192,43	177,10	188,16	154,37	87,09	70,34
uhlovodíky (C8–C25)	1074,47	1086,14	1109,28	848,76	1091,89	1620,63
aldehydy (C8–C14)	1,97	1,25	ND	14,61	ND	ND
2-propyl-1-pentanol	ND	ND	0,73	ND	ND	ND
3-hexadeken	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7,9-di-*terc*-butyl-1-oxaspiro(4,5)deka-6,9-dien-2,8-dion	ND	ND	ND	17,84	10,85	14,28
2,5-di-*terc*-butyl-1,4-benzoquinon	ND	ND	ND	4,56	41,68	ND
2,5-cyclohexadien-1,4-dion	ND	ND	ND	9,99	11,23	6,12
2,4-di-*terc*-butylfenol	ND	ND	ND	17,54	37,72	44,37
3,5-di-*terc*-butyl-4-hydroxybenzaldehyd	ND	ND	ND	ND	ND	ND
benzen	ND	ND	ND	26,06	63,84	87,85
2,5-furandion (maleinanhydrid)	ND	ND	ND	ND	3,57	2,95
1,3-dioxolan	ND	ND	ND	ND	ND	3,15

Poznámky k Tabulce 3:

Hodnoty teoretické migrace jsou vypočítané z průměrné hodnoty obsahů identifikovaných látek po stanovení extrakcí

uvedené v Tabulce 2.

Irgafos 168 – tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfit

ND – pod limitem detekce, respektive látka neměla signál větší než trojnásobek šumu. Limit detekce nebyl stanovován.

HPP – vysoký hydrostatický tlak.

kGy – jednotka gama záření, 1 kilogray = 1000 J/kg.

PVC fólie

U PVC fólie byl sledován vliv tepelného opracování (70 °C, 30 minut), vysokého hydrostatického tlaku (400 MPa, 20 minut) a gama záření (10 kGy, 50 kGy, 100 kGy) na obsah, degradaci a uvolňování IAS, NLS a NIAS.

Nejpoužívanějšími změkčovadly v PVC fóliích jsou látky s nízkou molekulovou hmotností jako jsou estery kyseliny ftalové, ale používají se i fosfáty, citráty, sebakáty, trimelliáty, adipáty apod. Antioxidanty, které se používají v PVC fóliích jsou např. Irganox 1076, bytulhydroxytoluen, triethylenglykol-bis(3-(3-*terc*-butyl-4-hydroxy-5-methylfenyl)-propionát a 1,1,3-tris-(3-methyl-4-hydroxy-5-*terc*-butylfenyl) butan [12,13].

U neošetřené PVC fólie bylo identifikováno a kvantifikováno celkem pět látek: bis(2-ethylhexyl)-tereftalát (CAS č. 6422-86-2), bis(2-ethylhexyl)-ftalát (CAS č. 117-81-7), estery kyselin adipové, 1,2-cyklohexandikarboxylové a p-toluenové. Změkčovadla bis(2-ethylhexyl)-tereftalát (BHET) a bis(2-ethylhexyl)-ftalát (DEHP) jsou uvedena

na pozitivním seznamu Nařízení Komise (EU) č. 10/2011, první s uvedeným SML = 60 mg/kg potraviny, druhé SML = 1,5 mg/kg potraviny [2, 3].

Tepelné opracování (70 °C/30 min) způsobilo u PVC fólie na jedné straně zvýšení obsahu bis(2-ethylhexyl)-ftalátu přibližně o 80 %, na druhé straně došlo k degradaci bis(2-ethylhexyl)-tereftalátu, ke snížení jeho obsahu o 21 %. Tyto změny byly vyhodnoceny jako statisticky významné. Tepelnou degradaci bis(2-ethylhexyl)-tereftalátu potvrzuje také autoři studie Marcilla A. a kol. [12].

Vlivem ošetření vysokým hydrostatickým tlakem se původní obsah látek v PVC fólii změnil a byly zaznamenány nové látky, které v původní neošetřené PVC fólii nebyly přítomny. Tyto látky nebyly pomocí softwaru MSD ChemStation a knihovnou hmotnostních spekter NIST14 jednoznačně identifikovány, a proto jejich obsah byl vypočítán jako suma všech neidentifikovaných látek. Obsah změkčovadla bis(2-ethylhexyl)-tereftalátu se vlivem HPP snížil o 21 % a obsah esterů kyselin adipové, 1,2-cyklohexandikarboxylové a p-toluenové se zvýšil o 137 % .

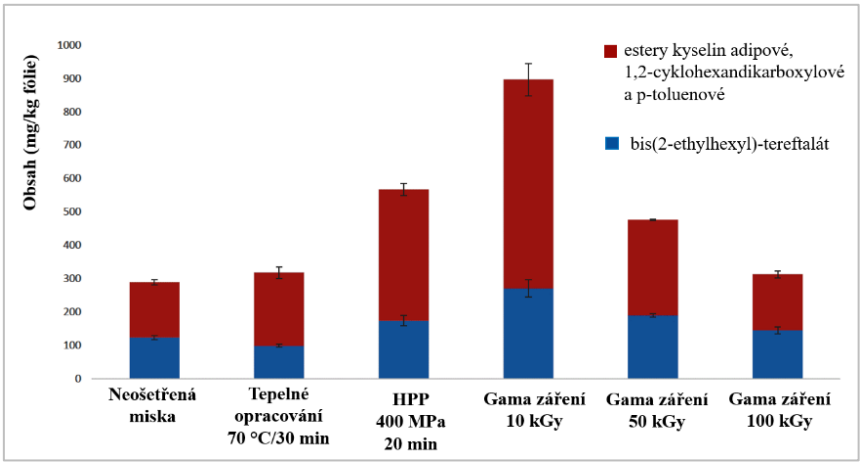
Vlivem záření o dávce 10 kGy došlo ke zvýšení obsahu bis(2-ethylhexyl)-tereftalátu o 120 % a esterů kyselin adipové, 1,2-cyklohexandikarboxylové a p-toluenové o 277 %. Obsah těchto látek se snižoval se zvyšující se dávkou gama záření. Po ozáření dávkou 50 kGy došlo ke zvýšení obsahu bis(2-ethylhexyl)-tereftalátu o 54 % a ke zvýšení obsahu esterů kyselin adipové, 1,2-cyklohexandikarboxylové a p-toluenové o 73 % v porovnání s neozářenou PVC fólií. V případě ozáření fólie dávkou 100 kGy se obsah bis(2-ethylhexyl)-tereftalátu zvýšil pouze o 17 % a obsah esterů kyselin adipové, 1,2-cyklohexandikarboxylové a p-toluenové pouze o 1 %.

V Tabulce 4 je uveden přehled nalezených, identifikovaných a kvantifikovaných látek v extraktech neošetřené a ošetřené BOPP/LDPE fólie a na Obrázku 4 je graficky znázorněn vliv technologického opracování u PVC fólie na obsah změkčovadla bis(2-ethylhexyl)-tereftalátu a esterů kyselin adipové, 1,2-cyklohexandikarboxylové a p-toluenové.

Tabulka 4: Přehled identifikovaných a kvantifikovaných látek v extraktech neošetřené a ošetřené PVC fólie

Identifikované látky	Obsah (mg/kg fólie)					
	Neošetřená fólie	Tepelné opracování 70 °C/30 min	HPP 400 MPa/20 min	Gama záření 10 kGy	Gama záření 50 kGy	Gama záření 100 kGy
bis(2-ethylhexyl)-ftalát	0,275 ± 0,010	0,494 ± 0,015	ND	ND	ND	ND
bis(2-ethylhexyl)-tereftalát	123,456 ± 5,799	97,881 ± 4,293	173,601 ± 15,557	270,875 ± 26,381	189,545 ± 4,683	144,799 ± 10,042
estery kyselin adipové, 1,2- cyklohexandikarboxylové a p-toluenové	166,130 ± 7,425	219,735 ± 17,266	393,617 ± 17,493	625,877 ± 48,396	286,858 ±1,282	168,165 ± 10,203
neidentifikované látky	ND	0,196 ± 0,013	4,947 ± 0,468	0,365 ± 0,041	ND	ND
kyselina benzoová	ND	ND	ND	0,0831 ±	0,163 ±0,021	0,135 ± 0,004
alifatické aldehydy (C8–C14)	ND	ND	ND	ND	0,547 ± 0,057	0,529 ± 0,043
furan	ND	ND	ND	ND	ND	0,220 ± 0,059
1-methylpentyl cyklopropan	ND	ND	ND	ND	ND	0,416 ± 0,046
nonadekan	ND	ND	ND	ND	ND	0,054

Poznámky k Tabulce 4:
Hodnoty obsahu identifikovaných látek jsou vyjádřeny ve tvaru aritmetického průměru ze tří paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.
ND – pod limitem detekce, respektive látka neměla signál větší než trojnásobek šumu. Limit detekce nebyl stanovován.
HPP – vysokým hydrostatický tlak.
kGy – jednotka gama záření, 1 kilogray = 1000 J/kg.



Obrázek 4: Vliv technologického opracování u PVC fólie na obsah změkčovadla bis(2-ethylhexyl)-tereftalátu a esterů kyselin adipové, 1,2-cyklohexandikarboxylové a p-toluenové

U neošetřené a ošetřené PVC fólie byly z průměrných hodnot obsahů identifikovaných látek v extraktech (viz Tabulka 4) stejným způsobem jako u BOPP/LDPE fólie vypočítány teoretické hodnoty specifických migrací. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 5. Z hodnot v Tabulce 5 je patrné, že hodnoty migrace identifikovaných látek překračují jak SML, tak požadavek na dodržení celkového migračního limitu, tj. 60 mg/kg uvedený v Nařízení Komise (EU) č. 10/2011 [2, 3]. Z těchto výsledků však není možné podobně jako u BOPP/LDPE fólie vyvodit závěr týkající se zdravotní závadnosti nebo nebezpečnosti testované PVC fólie.

Pro získání relevantních výsledků migračních parametrů by bylo nutné provést migrační testy za použití podmínek, které odpovídají způsobu výroby a skladování balené potraviny.

Tabulka 5: Teoretické hodnoty specifické migrace u neošetřené a ošetřené PVC fólie

Identifikované látky	Teoretické hodnoty specifické migrace (mg/kg potravinového simulantu)					
	Neošetřená fólie	Tepelné opracování 70 °C/30 min	HPP 400 MPa/20 min	Gama záření 10 kGy	Gama záření 50 kGy	Gama záření 100 kGy
bis(2-ethylhexyl)-ftalát	2,55	4,58	ND	ND	ND	ND
bis(2-ethylhexyl)-tereftalát	1145,18	907,94	1610,32	2512,64	1758,21	1343,16
estery kyselin adipové, 1,2- cyklohexandikarboxylové a p-toluenové	1541,02	2038,27	3651,19	5805,64	2660,90	1559,90
neidentifikované látky	ND	1,81	45,88	3,39	ND	ND
kyselina benzoová	ND	ND	ND	0,77	1,51	1,25
aldehydy	ND	ND	ND	ND	5,07	4,90
furan	ND	ND	ND	ND	ND	2,04
1-methylpentyl cyklopropan	ND	ND	ND	ND	ND	3,86
nonadekan	ND	ND	ND	ND	ND	0,50

Poznámky k Tabulce 5:
Hodnoty teoretické migrace jsou vypočítané z průměrné hodnoty obsahů identifikovaných látek po stanovení extrakcí
uvedené v Tabulce 4.
ND – pod limitem detekce, respektive látka neměla signál větší než trojnásobek šumu. Limit detekce nebyl stanovován.
HPP – vysoký hydrostatický tlak.
kGy – jednotka gama záření, 1 kilogray = 1000 J/kg.

PP miska

PP misky byly podrobeny simulaci podmínek, které deklaroval výrobce na etiketě. Byl u nich sledován vliv tepelného opracování (100 °C/15 min a 70 °C/2 h) a mikrovlnného ohřevu (700 W/5 min) na obsah, degradaci a uvolňování IAS, NLS a NIAS.

U neošetřené PP misky byly identifikovány a kvantifikovány celkem čtyři látky: tris(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfit (CAS č. 31570-04-4), tris(2,4-di-*terc*-butyl-fenyl)-fosfát (CAS č. 95906-11-9), benzen (CAS č. 71-43-2) a nasycené alifatické uhlovodíky C8–C25.

V neošetřené PP misce byl identifikován antioxidant tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfit (Irgafos 168). Popis, legislativní požadavky na jeho použití, možnost jeho degradace je popsán výše v kapitole BOPP/LDPE fólie.

Dále u neošetřené PP misky byl identifikován a kvantifikován benzen o obsahu 0,2±0,01 mg/kg. V PP misce po ošetření již nebyl detekován. Přítomnost a původ benzenových sloučenin ve fóliích na bázi polyolefinů uvádí studie Rivas-Cañedo a kol. [14].

Identifikované alifatické uhlovodíky jsou uvedeny na pozitivním seznamu nařízení (EU) č.10/2011 s omezením, že obsah uhlovodíků s počtem atomů <25 nesmí překročit 40 %. Zároveň také mohou být součástí minerálních olejů, jejichž problematika je velmi rozsáhlá a nejasná. Obsah minerálních uhlovodíků s počtem atomů uhlíku <25 nesmí překročit 5 % [1, 2]. Identifikované uhlovodíky v PP misce pochází pravděpodobně z polymerních řetězců

molekul polypropylenu, nejedná se tedy o aditivní látky a pravděpodobně nejsou ani pozůstatkem minerálních olejů.

Vlivem tepelného opracování PP misky při teplotě 100 °C působící 15 minut došlo ke statisticky významným změnám v obsazích identifikovaných látek. Obsah antioxidantu Irgafosu 168 se zvýšil o 8 % a degradačního produktu tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfátu o 18 % v porovnání s neošetřenou PP miskou. Vlivem tepelného opracování při teplotě 70 °C po dobu 2 hodiny došlo ke statisticky významnému snížení hodnot obsahů antioxidantu Irgafosu 168 a degradačního produktu tris-(2,4- di-*terc*-butylfenyl)-fosfátu. V porovnání s neošetřenou PP miskou se obsah antioxidantu Irgafosu 168 snížil o 76 % a obsah degradačního produktu tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfátu o 84 %.

Stejně tak vlivem mikrovlnného ohřevu došlo při porovnání s neošetřenou PP miskou ke statisticky významnému snížení hodnot antioxidantu Irgafosu 168 o 72 % a degradačního produktu tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfátu o 80 %. Tato degradace byla nižší než u tepelného ošetření 70 °C 2 hodiny. Vlivem mikrovlnného záhřevu došlo i ke vzniku látek, které nebylo možné v důsledku velmi nízké míry shody hmotnostních spekter s knihovnou spekter NIST14 identifikovat.

V Tabulce 6 je uveden přehled identifikovaných a kvantifikovaných látek v extraktech neošetřené a ošetřené PP misky a na Obrázku 5 je graficky znázorněn vliv tepelného opracování a mikrovlnného ohřevu u PP misky na obsah antioxidantu Irgafos 168 a jeho degradačního produktu tris-(2,4-*terc*-butylfenyl)-fosfátu.

Tabulka 6: Přehled identifikovaných a kvantifikovaných látek v extraktech neošetřené a ošetřené PP misky

Identifikované látky	Obsah (mg/kg misky)			
	Neošetřená miska	Tepelné opracování 100 °C/15 min	Tepelné opracování 70 °C/2 h	Mikrovlnný ohřev 700 W/5 min
Irgafos 168	123,48±2,11	133,50±2,94	29,88±2,46	34,03±1,57
tris(2,4-di-*terc*-butyl-fenyl)-fosfát	42,91±1,51	50,74±1,15	7,06±1,25	8,41±0,97
benzen	0,20±0,01	ND	ND	ND
neidentifikované látky	ND	ND	ND	157,17±7,07

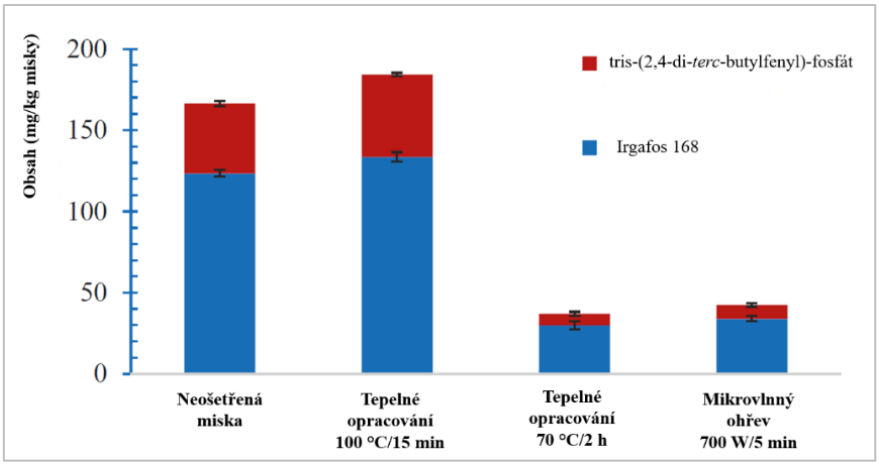
Poznámky k Tabulce 6:

Hodnoty obsahu identifikovaných látek jsou vyjádřeny ve tvaru aritmetického průměru ze tří paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.

ND – pod limitem detekce, respektive látka neměla signál větší než trojnásobek šumu.

Limit detekce (tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfitu byl 0,34 mg/kg.

Irgafos 168 – tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfit.



Obrázek 5: Vliv tepelného opracování a mikrovlnného ohřevu u PP misky na obsah Irgafosu 168 a jeho degradačního produktu tris-(2,4-*terc*-butylfenyl)-fosfátu

Migrační testy byly provedeny u PP misky do potravinového simulantu 95 % ethanolu (odpařitelná náhrada potravinového simulantu D2 – rostlinného oleje) při teplotě 40 °C po dobu 10 dnů. Výsledky migračních testů jsou uvedeny v Tabulce 7.

Antioxidant Irgafos 168 migroval u neošetřené PP misky v množství 12,13±0,98 mg/kg. Vlivem tepelného opracování při teplotě 100 °C po dobu 15 minut se jeho migrační úroveň zvýšila o 115 %. Vlivem tepelného opracování při teplotě 70 °C po dobu 2 hodin došlo ke zvýšení migrační úrovně antioxidantu Irgafosu 168 o 92 % v porovnání s neošetřenou PP miskou. Vlivem mikrovlnného ohřevu došlo ke zvýšení úrovně migrace antioxidantu Irgafosu 168 o 63 % v porovnání s neošetřenou miskou. Z těchto výsledků vyplívá, že konvenční ohřev má významnější vliv na migraci antioxidantu Irgafosu 168 než mikrovlnný ohřev. K podobnému závěru dospěli i autoři studie Yoo a kol. [15].

Tabulka 7: Hodnoty specifických migrací Irgafosu 168 u neošetřených a ošetřených PP misek

Migrovaná látka	Specifická migrace (mg/kg potravinového simulantu)			
	Neošetřená miska	Tepelné opracování 100 °C/15 min	Tepelné opracování 70 °C/2 h	Mikrovlnný ohřev 700 W/5 min
Irgafos 168	12,13±0,98	26,07±1,02	23,23±5,18	19,79±1,01

Poznámky k Tabulce 7:
Hodnoty specifické migrace jsou vyjádřeny ve tvaru aritmetického průměru ze tří paralelních stanovení ± směrodatná odchylka.
Limit detekce (tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfitu byl 0,34 mg.kg-1.
Irgafos 168 – tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfit.

ZÁVĚR

Z uvedených výsledků vyplývá, že technologické opracování potravin má vliv na obsah, degradaci a uvolňování IAS, NLS a NIAS u materiálů určených pro kontakt s potravinami.

Tepelné opracování ovlivňovalo obsah, degradaci a uvolňování IAS, NLS a NIAS v závislosti na výšce teploty a době jejího působení. Vyšší teplota a krátká doba tepelného

opracování (100 °C, 15 minut) u PP misek způsobila, mírné zvýšení obsahu antioxidantu Irgafosu 168 a jeho degradačního produktu tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfátu, zatímco nižší teplota a dlouhá doba (70 °C, 2 hodiny) způsobila snížení obsahu antioxidantu Irgafosu 168 a tris-(2,4-di-t*erc*-butylfenyl)-fosfátu. Tepelné opracování (70 °C, 30 minut) u BOPP/LDPE fólie způsobilo významný pokles obsahu antioxidantu Irgafosu 168 a tris-(2,4-di-*terc*-butylfenyl)-fosfátu patrně v důsledku jejich tepelné degradace. U PVC fólie došlo po tepelném opracování (70 °C, 30 minut) ke statisticky významným změnám obsahu změkčovadel bis(2-ethylhexyl)-tereftalátu a bis(2-ethylhexyl)-ftalátu.

U BOPP/LDPE a PVC fólií došlo po použití vysokého hydrostatického tlaku (400 MPa, 20 minut) ke statisticky významným změnám v obsahu identifikovaných látek. U PVC fólie došlo k úplné degradaci změkčovadla tris-(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfátu a u BOPP/LDPE fólie ke změnám v obsahu antioxidantu Irgafos 168 a jeho degradačního produktu bis(2-ethylhexyl)-ftalátu.

Největší vliv na degradaci IAS, NLS a vznik NIAS jak v BOPP/LDPE tak PVC fólii mělo gama záření, a to i při běžně používané dávce pro konzervaci potravin 10 kGy [16].

Vypočítané teoretické hodnoty specifických migrací identifikovaných látek v ošetřených a neošetřených BOPP/LDPE a PVC fóliích nejsou vhodné pro posouzení jejich zdravotní závadnosti nebo nebezpečnosti.

Výsledky této práce mohou být využity jednak při výběru vhodných obalových materiálů v kombinaci s technologickým opracováním potravin, a jednak jako podklad ke sledování změn ve složení a obsahu IAS, NLS a NIAS v obalových materiálech, jak během jejich výroby, tak i během výroby a skladování balených potravin.

LITERATURA

1. Sosnovcová J. 2022. Zdravotní nezávadnost materiálů a předmětů určených pro styk s potravinami – aktuality. Potravinářská komora ČR. Webinář 21.4.2022. https://www.foodnet.cz/images/Sosnovcova.pdf.
2. Nařízení Komise (EU) č. 10/2011 ze dne 14. ledna 2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami.
3. Nařízení Komise (EU) č. 2020/1245 ze dne 2. září 2020, kterým se mění a opravuje nařízení (EU) č. 10/2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami.
4. Piringer O. G., Baner A. L., 2000. Plastic Packaging Materials for Food: Barrier Function, Mass Transport, Quality Assurance, and Legislation. ISBN: 978-3-527-61329-8.
5. EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF). 2017. Safety assessment of the substance phosphorous acid, mixed 2,4-bis(1,1-dimethylpropyl)phenyl and 4-(1,1-dimethylpropyl)phenyl triesters for use in food contact materials. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4841.
6. Deschênes L., Carlsson D. J., Wang Y. a Labrèche C. 2004. Postirradiation Transformation of Additives in Irradiated HDPE Food Packaging Materials: Case Study of Irgafos 168. *Irradiation of Food and Packaging*, 875, 277-89.
7. Krzymien M. I. E., Carlsson D. J., Deschenes L. a Mercier M. 2001. Analyses of volatile transformation products from additives in gamma-irradiated polyethylene packaging. *Food Additives & Contaminants*, 18: 739-749.
8. Celiz M., Morehouse K., Dejager L. a Begley T. 2019. Radiolysis products of antioxidants from gamma-irradiated polyethylene resins. *Polymer Degradation and Stability*, 165, 196-206.
9. Celiz M. D., Morehouse K. M., deJager L. S., Begley T. H. 2020. Concentration changes of polymer additives and radiolysis products in polyethylene resins irradiated at doses applicable to fresh produce. *Radiation Physics and Chemistry*, 166, 108520.

10. Alin J., Hakkarainen M. 2011. Microwave heating causes rapid degradation of antioxidants in polypropylene packaging, leading to greatly increased specific migration to food simulants as shown by ESI-MS and GC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 5418-27.
11. Bourges F., Bureau G., Pascat B. 1992. Effects of electron beam irradiation on commercial polypropylene: Kinetic study of antioxidant degradation. *Packaging Technology and Science*, 5, 197-204.
12. Marcilla A., García S. a García-Quesada J. C. 2004. Study of the migration of PVC plasticizers. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 71: 457-63.
13. Cortolano F. P. 1993. Antioxidants and UV stabilizers: A summary of their utilization in PVC. *Journal of Vinyl Technology*, 15, 69-75.
14. Rivas-Cañedo A., Fernandez-Garcia E. a Nunez M. 2009. Volatile compounds in fresh meats subjected to high pressure processing: Effect of the packaging material. *Meat Science*, 81, 321-328.
15. Yoo S., Sigua G., Min D. a Pascall M. A. 2014. The Influence of High-pressure Processing on the Migration of Irganox 1076 from Polyethylene Films. *Packaging Technology and Science*, 27, 255-263.
16. Vyhláška č. 133/2004 Sb. Vyhláška o podmínkách ozařování potravin a surovin, o nejvyšší přípustné dávce záření a o způsobu označení ozáření na obalu.

ALBERTOVA Tržnice

MENU BOX

SKVĚLÁ INSPIRACE, CO UVAŘIT





Zkuste také naše lasagne, polévky nebo piri piri.

CALL FOR PAPERS

Publish your article in

CZECH JOURNAL OF FOOD SCIENCES

TOPICS OF INTEREST

Food Analysis and Quality | Food Biochemistry | Nutrition and Safety | Food Microbiology | Food Technology and Economy

WHY CJFS?

- International peer-reviewed journal
- Open access
- Double-blind reviewing
- Published 6 times a year since 1983
- Web of Science (IF 2022: 1.3, 5-Year IF: 2.0)
- SCOPUS (SJR 2022: 0.32)



Visit: https://cjfs.agriculturejournals.cz/

Contact: cjfs@cazv.cz

CAAS CZECH ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES

100 years anniversary 1924–2024

Sborník příspěvků

Food technology, food quality
Nové trendy v úchově potravin

2024

Vydavatel: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice

Editoři: Tereza Škorpilová, Aleš Rajchl

Rok vydání: 2024

Počet stran: 222

Elektronická verze publikace ve formátu PDF.