

SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

2. ročník konference

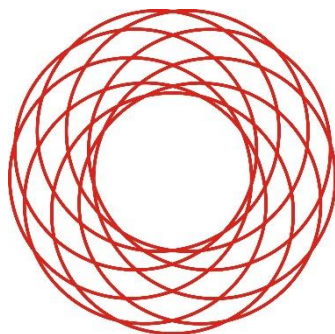
**Food technology, food quality
Nové trendy v úchově potravin**



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE**

Sponzoři

Zlatí sponzoři



DEVRO

Stříbrní sponzoři



GeneProof®
Molecular diagnostics for your routine



Bronzoví sponzoři



SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

2. ročník konference

**Food technology, food quality
Nové trendy v úchově potravin**

22. 2. 2022

Praha



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE**

**Tereza Škorpilová, Aleš Rajchl
Editoři**

Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha

Praha 2022

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)
doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.
Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.
Ing. Magdaléna Hrubá
Ing. Jan Pivoňka, Ph.D.
doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.
Ing. Tereza Škorpilová, Ph.D.
Ing. Zdeňka Urbančíková
Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

Publikace neprošla jazykovou ani odbornou úpravou.

Za obsah příspěvků odpovídají autoři.

© Tereza Škorpilová, Aleš Rajchl, 2022

ISBN 978-80-7592-125-3

OBSAH

R referát

P poster

	str.	
R1	8	Ševčík, R.: Nové trendy v technologii potravin
R1a	13	Janoud, Š., Bauer, J., Ševčík, R.: Ověření možnosti využití 3D tisku pro produkci potravin
R2	21	Šimko, P., Kolarič, L.: Moderné trendy odstraňovania nežiadúcich látok z potravín
R3	26	Kajánková, K.: Gastroodpady – nadměrné plýtvání potravinami
R4	33	Wiktor, A., Landfeld, A., Matys, A., Novotná, P., Dadan, M., Kovářiková, E., Nowacka, M., Mulenko, M., Witrowa-Rajchert, D., Strohalm, J., Houška, M.: Vybrané parametry kvality jablek sušených na vzduchu předem ošetřených vysokým tlakem, ultrazvukem a pulzním elektrickým polem – srovnávací studie.
R6	53	Aulický, R., Vendl, T., Prokop, J., Stejskal, V.: Ochrana balených potravin před skladištními škůdci pomocí přírodních látek
R7	61	Hadaš, J.: Regulace reklamy na potraviny – historie a trendy
R8	68	Vápenka, L.: Funkční vlastnosti obalů
R10	72	Horáčková, Š.: Alternativy mléka, budoucnost nebo problém?
R11	77	Pivoňka, J., Hrubá, M.: Uhlíková stopa potravin v kontextu jejich výživové hodnoty
P1	85	Bauer, J., Černá, B., Janoud, Š., Ševčík, R.: Hodnocení tlakových účinků u pasterovaných produktů
P2	93	Beňo, F., Kuncová, G., Horsáková, I., Pohůnek, V., Ševčík, R.: Využití radiofrekvenčního ohřevu při ošetření sušených potravin
P3	102	Čapla, J., Zajác, P., Golian, J., Čurlej, J., Benešová, L., Jakabová, S., Belej, Ľ.: Zmierňovanie potravinových podvodov: strategické prístupy a nástroje
P4	111	Čurlej, J., Zajác, P., Čapla, J., Golian, J.: Využitie biokonzervačných látok pri produkcii mlieka a mliečnych výrobkov
P5	119	Golian, J., Benešová, L., Kročko, M., Kollárová, K., Jakabová, S.: Obsah a variabilita tuku a bielkovín vo vybraných polotvrdých syroch

P6	128	Golian, J., Jakabova, S., Benešová, L, Kollárová, K.: Obsah a variabilita mastných kyselín vo vybraných polotvrdých syroch typu eidam
P7	138	Hanková, M., Málková, M., Čížková, H., Kružík, V., Rajchl, A.: Vliv reformulace čerstvých nezrajících sýrů na profil těkavých a senzoricky aktivních látek
P8	145	Horsáková, I., Beňo, F., Kuncová, G., Ševčík, R.: Využití bakteriofágu při inhibici kazící mikroflóry brambor
P9	152	Jisl, R.: Příklady použití trysek Ikeuchi v potravinářské výrobě
P11	157	Kružík, V., Weberová, M., Mazáčová, K., Škorpilová, T., Čížková, H.: Možnosti ověření pravosti včelího vosku
P12	164	Kuncová, G., Horsáková, I., Reitmeier, J.: Možnosti aplikace pulsního elektrického pole k inhibici a stimulaci vybraných mikroorganismů
P13	173	Mrlík, M., Vápenka, L., Sedláčková, S.: Možnosti ověření autenticity recyklovaného PET pro potravinářské použití
P14	181	Ngo, V.T.N., Beňo, F., Pohůnek, V., Ševčík, R.: Fermented meat products in Vietnam
P15	192	Bhujel, K.N., Kružík, V., Tobolka, A., Čížková, H.: Natural occurring preservatives in selected fruits and vegetables
P16	198	Podskalská, T.; Bhujel, N. K.; Škorpilová, T.; Beňo, F.; Čížková, H.: Porovnání zvolených kvalitativních parametrů šťáv z vybraných odrůd rybízu
P17	205	Rezková, E., Hrubá, M., Škorpilová, T., Gabrovská, D., Pivoňka, J.: Spotřebitelské vnímání výživové hodnoty tuků a olejů
P18	213	Rýdlová, L., Makrlíková, E., Škorpilová, T., Rajchl, A.: Vliv obsahu cukru na kinetiku degradace anthokyanů při sváření jahodových pomazánek
P19	221	Škorpilová, T., Tobolka, A., Křížová, D., Němečková, I., Trešlová, Š., Rajchl, A.: Vliv reformulace lisovaných bílých sýrů na chemické složení
P20	229	Šviráková, E., Krupinský, J.: Tolerance nežádoucích octových bakterií ke kyselině octové ve vazbě na průmyslovou výrobu nealkoholických nápojů
P21	237	Šviráková, E., Buňková, L.: Mikrobiologické i chemické riziko výskytu nežádoucích bakterií <i>Asaia lannensis</i> v nealkoholických nápojích
P22	243	Tobolka, A., Čakarov, P., Rajchl, A.: Fortifikace syrovátkového nápoje kyselinou listovou
P23	252	Vápenka, L., Mrlík, M., Sedláčková, S., Václavíková, E., Votavová, L.: Nezáměrně přidávané látky migrující z materiálů pro kontakt s potravinami

- P24 258 **Vápenka, L., Mrlík, M., Václavíková, E., Votavová, L.:** Optimalizace stanovení celkové migrace z materiálů určených pro kontakt s potravinami do simulantu tučných potravin

R1

NOVÉ TRENDY V TECHNOLOGII POTRAVIN *NEW TRENDS IN FOOD TECHNOLOGY*

Ševčík R.

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

Abstrakt

Potravinářský průmysl prochází změnami a výzvami způsobenými především požadavky klíčových zákazníků a spotřebitelů na bezpečné potraviny s větším přínosem pro zdraví a kvalitu produktů. Mimo tyto faktory je často řešena také udržitelnost produkce vybraných potravin a dopad jejich výroby na životní prostředí. Na tyto podněty reaguje průmysl vývojem nových výrobků a využíváním nových a inovovaných technologií. Cílem příspěvku je přiblížit trendy, které ovlivňují vývoj a inovace v produkci potravin v České republice.

Klíčová slova: *Inovace, trendy, reformulované potraviny alternativní produkty, hybridní produkty, pulzní elektrické pole, radiofrekvenční ohřev.*

Abstract

The food industry is undergoing changes and challenges caused primarily by customer and consumer demands for safe food with key health and product quality benefits. In addition to factors, this sustainability of the production of selected foods and the impact of their production on the environment is often addressed. The industry responds to these stimuli by developing new products and using new and innovative technologies. The aim of the paper is to present the trends that affect the development and innovation in food production in the Czech Republic.

Keywords: *Innovations, trends, reformulated foods, alternative products, hybrid products, pulsed electric field, radio frequency heating.*

Úvod

Trendy v oblasti výroby a prodeje potravin ovlivňuje celá řada faktorů, které mají významný dopad na úspěšnost inovací. V oblasti výroby a prodeje potravin můžeme pozorovat v posledních letech několik významných trendů, které souvisejí především se změnou spotřebitelských návyků a zájmem spotřebitelů o zdraví životní styl. Dalším významným faktorem je dopad produkce potravin na životní prostředí a s tím spojená udržitelnost produkce. Inovace můžeme v produkci a zpracování potravin rozdělit na produktové inovace, týkající se vývoje zcela nových výrobků nebo inovací ve složení výrobků a inovace týkající se používané technologie pro výrobu potravin. Cílem příspěvku je přiblížit vybrané trendy, které ovlivňují vývoj a inovace produkce potravin v České republice.

Produktové inovace

Příkladem produktových inovací jsou takzvané reformulované produkty, které obsahují nižší obsah soli, tuku, cholesterolu, dusitanů a kalorií než běžné výrobky, a navíc obsahují bioaktivní látky, jako jsou například nenasycené mastné kyseliny, steroly a vláknina. Mezi reformulované produkty můžeme zařadit i takzvané hybridní produkty, kdy je maso doplněno ve výrobku zeleninou nebo rostlinným olejem.



Produkty se sníženým obsahem soli



Produkty se sníženým obsahem cukru



Produkty obohacené omega 3



Hybridní masné výrobky

Dalšími produktovými inovacemi jsou alternativní produkty k běžně vyráběným masným produktům, které by měly mít potenciál podpořit potravinovou udržitelnost díky minimalizaci negativního vlivu na životní prostředí. Mezi takovéto produkty můžeme zařadit rostlinné alternativy živočišných produktů, mykoproteiny, kultivované maso, hmyz nebo plži.



Rostlinné alternativy



Mykoproteiny



Hmyz



Hlemýždi rodu Helix

Procesní inovace

Procesní inovace se zaměřují na zlepšení manipulace se surovinami a zvířaty, zajištění welfare, automatizaci procesů výrobních procesů a prodloužení trvanlivosti produktů. Mezi procesy, které pomáhají udržet pohodu zvířat lze zařadit automatickou nakládkou zvířat a jejich dopravou na jatka. Následné operace probíhající během jatečného opracování a porcování masa je snahou co nejvíce automatizovat, tak aby se zároveň snížilo riziko kontaminace produkovaného masa a zároveň snížilo riziko výskytu vad masa. Následné procesy, které probíhají při dělení masa, patří mezi náročné manuální činnosti, které se však daří automatizovat a tím minimalizovat podíl ruční práce.

Tepelné opracování zůstává jednou z hlavních technologií sloužící k prodloužení trvanlivosti potravinářských výrobků. Během těchto procesů (sterilace a pasterace), ale dochází k ničení senzorycky, nutriční a funkčně cenných složek potravin. Rostoucí spotřeba zdravých, čerstvých, bezpečných a "minimálně zpracovaných" produktů vede k vývoji a aktivitám v oblasti technologii zpracování potravin bez využití tepla. Takovými metodami jsou například použití vysokého tlaku, použití radiofrekvenčního ohřevu nebo využití pulzního elektrického pole. Pokud jde o vytvoření odpovídající struktury nových potravin popřípadě začlenění bioaktivních sloučenin do jejich matrice, tak se začínají uplatňovat nové technologie, jako jsou například nanoenkapsulace nebo 3D-tisk.

Použitá literatura

- Bekhit A E-D.A., *Advances in Meat Processing Technology*, (2017), CRC Press.
- Desmond, E. (2006). Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science*, 74 (1), 188–196.
- Gou, P., Guerrero, L., Gelabert, J., & Arnau, J. (1996). Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry-cured pork loin. *Meat Science*, 42(1), 37–48.
- Guin'e, R. P. F., Florença, S. G., Barroca M. J., Anjos O. (2021): The duality of innovation and food development versus purely traditional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 109 16–24
- Lopez-Lopez, I., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., & Jimenez-Colmenero, F. (2009). Design and nutritional properties of potential functional frankfurters based on lipid formulation, added seaweed and low salt content. *Meat Science*, 83(2), 255–262.
- Oberdieck, R. (2004). Fat protection for foods, especially meat products. *Fleischwirtschaft*, 84(10), 91–95.

- Paleari, M. A., Moretti, V. M., Beretta, G., Mentasti, T., & Bersani, C. (2003). Cured products from different animal species. *Meat Science*, 63(4), 485–489.
- Park, Y. (2009). Conjugated linoleic acid (CLA): Good or bad trans fat? *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, S4–S12 Suppl.
- Rosenthal, A., Guedes, A. M. M., Olbrich dos Santos, K. M., Deliza, R. (2021): Healthy food innovation in sustainable food system 4.0: integration of entrepreneurship, research, and education, *Current Opinion in Food Science*, 42, 215-223.
- Rubio, N. R., Xiang, N., Kaplan, D. L. (2020), Plant-based and cell-based approaches to meat production. *Nature Communications*. 11, (6276), (2020)
- Ryan, E., Aherne, S. A., O'Grady, M. N., McGovern, L., Kerry, J. P., & O'Brien, N. M. (2009). Bioactivity of herb-enriched beef patties. *Journal of Medicinal Food*, 12(4), 893–901.
- Weiss J., Gibis M., Schuh V., Salminen H.: Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products , *Meat Science* 86 (2010) 196–213.

R1a

Ověření možnosti využití 3D tisku pro produkci potravin

Verification of the possibility of using 3D printing for food production

Štěpán Janoud, Josef Bauer, Rudolf Ševčík

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

Souhrn

Cílem této práce bylo ověření možnosti využití 3D tisku pro výrobu potravin z živočišných i rostlinných surovin. Nejprve byla sestrojena 3D tiskárna se zcela novým extruderem schopným extruze pastovitých hmot. Tisk byl dále testován na vzorcích veganské paštiky a těsta, kdy se postupně optimalizovali parametry tisku, které jsou pro správný průběh vytváření 3D-objektu nezbytné. V neposlední řadě bylo také testováno chemické složení samotných vzorků a byly diskutovány další kroky, které by měli pozitivní vliv na kvalitu a rychlost tisku.

Klíčová slova: 3D-tisk, potraviny, extruze

Summary

The aim of this work was to verify the possibility of using 3D print for the production of food from animal and plant raw materials. First, a 3D printer was built with a completely new extruder capable of extruding pasty materials. The printing was further tested on samples of vegan pate and dough, which gradually optimized the printing parameters, which are necessary for the proper creation of the 3D-object. Last but not least, the chemical composition of the samples themselves was also tested and further steps were discussed that would have a positive effect on the quality and speed of printing.

Keywords: 3D-printing, food, extrusion

Úvod do problematiky

3D tisk potravin je nová technologie, která umožňuje výrobu trojrozměrných objektů, u nichž je možné pomocí extruze a nanášení, dle předem připraveného modelu ovlivnit jejich přesný tvar. Snaha o využití 3D tisku ve všech odvětví průmyslu je v dnešní době nesmírná. Výjimkou není ani potravinářský průmysl, kde se výzkumníci snaží testovat různé potravinářské materiály vhodné pro tento proces. Příkladem těchto materiálů, které jsou nazývány, jako bio-inkoust jsou: čokoláda, potraviny na bázi pektinu, potravinářské gely, kaseinát sodný anebo složitější produkty. Autoři často používají přístup pokus-omyl, mění složení potraviny v závislosti na viskozitě, který umožňuje materiálu protékat tryskou. [1-2]

Ve vědeckých studiích, které testovali využití pasty z kuřecího masa pro 3D tisk, bylo prokázáno dosažení pozitivních výsledků při použití průměru trysky 1,3 mm, průměru vlákna 9,8 mm, teplotě trysky 28,0 °C, a přidání 2,5 % NaCl. Výsledky reologie a pevnosti gelu ukázaly, že kuřecí pasta s přídavkem NaCl měla pozitivní vlastnosti při ztenčení ve smyku a dostatečnou pevnost gelu (>99,85 g mm), což naznačuje, že kuřecí pasta dosáhla rovnováhy mezi hladkým vytlačováním z trysky a pevností struktury po nanesení. Dále byla zkoumána možnost kontinuálního tepelného ošetření 3D-tištěného výrobku. Za optimalizovaných podmínek měly tepelně opracované vzorky podobné texturní charakteristiky jako ostatní vzorky, ale vykazovaly větší ztráty vařením. Bylo prokázáno, že vlivem smykového efektu při 3D tisku se voda v kuřecím gelu postupně přeměnila na volnou vodu, která se oddělila a vytekla ve formě šťávy, což vedlo k relativní koncentraci proteinu. V důsledku toho se po tepelném opracování vytvořila pevnější a jednodušší struktura gelové sítě. Stručně řečeno, produkt měl dobrou geometrii a určitou strukturu. [3-4]

Kromě využití tepelného ošetření pro stabilizaci tištěného materiálu zmiňují [Arianna et al. 2021] využití potravinářských hydrokoloidů. Hydrokoloidy mají vliv na viskozitu, chování při ztenčování ve smyku a zotavení ve smyku, a také dopad na kvalitu extruzi, charakterizaci vláken, přesnost tvaru a tvarovou stálost. Zahušťovadla zvyšují viskozitu pasty pro snadné počáteční a kontinuální vytlačování a konzistenci výsledného tisku. Želírující činidla přispívají k tvorbě viskoelastických systémů s různou pevností, prospěšných pro tvarovou přesnost a stabilitu. Pochopení rozpustnosti, tepelné odolnosti a stability použitých hydrokoloidů je proto nezbytné pro proveditelnost následného zpracování 3D-tištěných masných výrobků. [5-6]

Na kvalitu tisku však nemá vliv pouze charakter tištěného materiálu, ale i parametry extrudéru samotného. Hlavní součástí 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 nárustu 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. 3D tisk živočišných produktů je však komplexní a náročný proces, který je třeba optimalizovat tak, aby drobné odchylky od standardních parametrů tiskárny a tištěného materiálu, nezpůsobovali selhání tisku. [4-6]

Následné tepelné opracování zaručuje stabilitu a zachování vytištěného tvaru. Studie (Genghan et al. 2022) prokázala, že z hlediska udržení tvaru jsou tištěné objekty z kuřecího masa vhodnou volbou. Avšak po tepelném opracování může být sledována větší ztráta vody. Tento jev lze popsat studií (Liu et al. 2018). Zjistili, že vláknitý masový materiál byl náchylný k oddělení masa a šťávy během procesu samotného 3D tisku. Když tištěný materiál projde špičkou trysky, dojde k vytvoření určitého smykového efektu. Vazby mezi částicemi jsou porušeny, takže látky v mase se extrémně snadno ztrácí. Tepelné opracování vede k většímu poškození svalové tkáně masové hmoty a následné ztrátě velké množství vody, bílkovin a dalších živin, což má za následek snížení obsahu sušiny. [3-4, 7]

Materiály a metody

Příprava vzorků

Pro tento experiment byly vyrobeny 2 vzorky různých potravinářských materiálů: vzorek 1 (veganská paštika), vzorek 2 (těsto):

Vzorek 1 (1 kg): 630 g vody, 160 g oleje, 160 g směsi aditiv (hrachový protein, citrusová vláknina, kokosový tuk, karagenan, alginát sodný, difosforečnan sodný, trifosforečnan sodný), 35 g směsi koření (cukr, droždí extrakt, cibule, česnek, červená řepa, černý pepř, zázvor, koriandr, muškátový oříšek) a 15 g soli. U vzorku 1 byla do termomixéru (Vorwerk, Německo) přidána voda, následně sůl, směs koření, směs přísad a olej za vzniku emulze.

Vzorek 2 (1 kg): 600 g pšeničné mouky, 300 g plnotučného mléka, 90 g čerstvých vajec a 10 g soli. Vzorek 2 byl připraven v kuchyňském robotu (Sencor, Česká republika), ve kterém byly přísady smíchány.

Konstrukce 3D tiskárny na potravinářský materiál

Pro účely tohoto experimentu byl sestaven trojrozměrný systém s pístovým extruderem, který byl vyroben pomocí standardní 3D tiskárny Ender 3 (maximální rozměry tištěného předmětu: $X = 232$ mm, $Y = 232$ mm, $Z = 250$ mm). Na obrázku 1 je upravená 3D tiskárna Ender pro tisk potravinářského materiálu a na obrázku 2 je záznam tisku vzorku 1. Nejprve byla odstraněna původní konstrukce plastového extrudéru spolu s kabeláží (na původní tiskárně byla ponechána hliníková podpěra na ose X). Dále byl upraven zdrojový kód firmwaru původní tiskárny, aby se původní extruder nezažhříval, což způsobovalo chyby v systému, jelikož extruder již nebyl připojen. Firmware je také potřeba pro změnu směru otáčení krokového motoru extrudéru pro dosažení

požadovaného směru otáčení a také tepelnou ochranu pro tisk pod 170 °C (zabraňující otáčení krokového motoru pod touto teplotou). Pomocí grafického softwaru Sharp3D byl po několika prototypech sestaven finální model pastového extrudéru s použitím původního krokového motoru spolu se dvěma ozubenými koly, pouzdem, pístem a zásobníkem vyrobeným z 200 ml injekční stříkačky. Všechny části modelu byly vytištěny na 3D tiskárně Ender 3 vyrobené z materiálu PLA (kyselina polymléčná) a následně zkonstruovány za použití standardních spojovacích materiálů (šrouby, závitová tyč, matice). Dalším krokem bylo posunutí zarážky osy Z do požadované výšky, aby nedošlo ke kolizi pastovitého extrudéru s vyhřívaným ložem. Nakonec byl extruder připevněn k původnímu hliníkovému nosiči na ose X a připojena veškerá potřebná kabeláž.

3D tiskárna a parametry tisku

Model pro tisk byl vytvořen pomocí grafického softwaru Sharp3D a následně připraven k tisku pomocí slicovacího programu PrusaSlicer. Parametry tisku byly testovány postupně, dokud nebylo dosaženo optimálních hodnot pro správný tisk. Teplota vyhřívaného lože byla zvolena na maximální hodnotu (110 °C), aby došlo k co nejrychlejší denaturaci proteinů tištěného materiálu. Pro vybraný model byla zvolena hustota výplně 10 % a výška vrstvy 1 mm. Průměr trysky lze změnit a byl zvolen průměr 1 mm. Tok materiálu se musí měnit v závislosti na hustotě materiálu. Pro účely tohoto experimentu byla zvolena hodnota 20 % výchozí hodnoty. Parametry tisku byly mnohokrát změněny a neoptimálnější jsou uvedeny v **tabulce 1**.

Fyzikálně-chemická analýza

U všech vzorků byl analyzován obsah vody, obsah tuku, popel, bílkoviny, aktivita vody a pH. Obsah vody ve vzorcích byl stanoven sušením při 103 ± 2 °C v sušárně HS 32 A (ZPA, Česká republika) do konstantního úbytku hmotnosti. Obsah tuku byl stanoven Soxhletovou metodou pomocí extrakční jednotky Soxtec 2043 (Foss, Švédsko). Protein byl stanoven Kjeldahlovou metodou. Popel byl stanoven v laboratorní peci (Nabertherm, Německo) ve čtyřech fázích: v první fázi ohřev pece na 200 °C po dobu 8 hodin. Dále pec zahřejte na 300 °C (6 hodin), ve třetí fázi zahřejte pec na 400 °C po dobu 8 hodin a v poslední fázi ohřevu pece na teplotu 500 °C (28 hodin). Aktivita vody byla měřena awmetrem Aqualab 4 TEV (Decagon Devices, USA) při teplotě 25 °C. Stanovení pH bylo měřeno pomocí pH metru Portavo 904 X (KNICK, Německo) s jehlovou sondou SE 104 N (KNICK, Německo).

Výsledky a diskuse

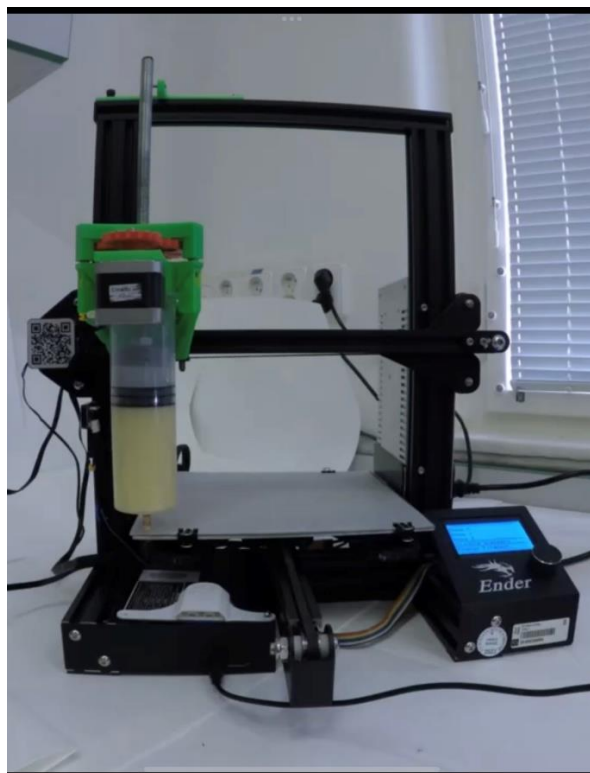
Konstrukce 3D tiskárny na potravinářský materiál

V rámci našeho experimentu jsme předělali 3D tiskárnu na plasty na tiskárnu pro tisk potravinářských materiálů pomocí pneumatického extrudéru. Tiskárna fungovala

velmi precizně a modely, které byly vytištěny, odpovídaly původní počítačové předloze včetně rozměrů. Vyhřívaná podložka se používala k denaturaci potravinového materiálu a fungovala perfektně. Extrudér sám velmi citlivě reagoval na otáčení motoru a převodovky, což vytvářelo tlak uvnitř nádrže. Oproti potisku plastu je tisk potravinářských materiálů mnohonásobně rychlejší a chyby způsobené vzduchovými bublinami ve vzorku nemají vliv na výsledný produkt. Nevýhodou našeho zařízení je časová náročnost přípravy tisku, tento problém by se dal ve výrobním měřítku eliminovat, pokud by běžel nepřetržitě. Dalším krokem je proto nahrazení pneumatického extrudéru peristaltickým čerpadlem, které dokáže dávkovat potravinářské materiály kontinuálně. Během experimentu jsme zjistili problém, kdy se zvýšil tlak v nádrži, a ozubená kola začala prokluzovat, ale to se vyřešilo snížením tlaku v nádrži. Obecně platí, že pro vzorky paštiky a masných výrobků je nutný homogenní materiál, aby nedošlo k ucpání trysky, jak bylo testováno u tisku vzorku 2. U vzorku 3 je snadné vytvořit 2D vzor libovolného tvaru (v našem případě symbol Batmana, Spidermana nebo hvězdy), ale z důvodu pomalé denaturace těsta na vyhřívaném lůžku dochází k problému při nanášení vyšších vrstev, proto je nutná dodatečná tepelná úprava. Příklad 1 je diskutován v následujících kapitolách.

Obrázek 1 3D tiskárna s naším upraveným extrudérem pro tisk potravin

A) Konstrukce 3D tiskárny



B) Během tisku vzorku 1



3D tiskárna a parametry tisku

Vzhledem k rozsahu této práce jsou data uvedena pouze pro vzorek 1. Po několika experimentech a rekonfiguracích jsou optimální parametry tisku pro vzorek 1 uvedeny v **tabulce 1**.

Tabulka 1 Tiskové parametry

Nastavení	Hodnota	Nastavení	Hodnota
Výška vrstvy	1.2 mm	Automatické chlazení	Zapnuto
Výška první vrstvy	0.3 mm	Teplota lože	110 °C
Vrchní pevné vrstvy	4	Násobič extruze	3
Hustota výplně	50 %	Délka retrakce	2 mm
Vzor výplně	Mřížka	Rychlost retrakce	63 mm/s
Perimetry	65 mm/s	Rychlost detrakce	48 mm/s
Malé perimetry	13 mm/s	Zdvih Z	1 mm
Vnější perimetry	55 mm/s	Pohyb	136 mm/s
Výplň	84 mm/s	První vrstva	38 mm/s
Vrchní pevná výplň	11 mm/s	Perimetry	2

Hlavním parametrem bylo určit výšku vrstvy tištěného předmětu, aby se materiál nanесl rovnoměrně a přilnul k vyhřívanému loži. Tento parametr byl také důležitý, aby nedošlo k rozsypaní a zničení již vytištěného materiálu. Dalším důležitým parametrem byl počet pevných vrstev pro zajištění homogenity tištěného předmětu. Hustota výplně byla velmi proměnlivá hodnota, protože zajišťuje správné vyplnění modelu. Pokud byla hodnota příliš nízká (10 %), tvořily se mezery, což je patrné z **obrázku 3 A**. Pokud však byla hodnota příliš vysoká (80 % a více), docházelo k nadměrnému odtoku potlaštěného materiálu. tištěný předmět. Pro vzorek 1 je optimální hodnota plnění 60 %. Na **obrázku 3 A** je znázorněn tisk modelu s hustotou výplně nastavenou na 10 %, kde jsou vidět mezery. Na **obrázku 3 B** je zobrazen tištěný model s 60 % hustotou výplně, který jsme shledali jako optimální, a na **obrázku 3 C** je znázorněn vzorek těsta. Tištěné materiály vykazují lepší strukturní vlastnosti ve srovnání s literaturou [6].

Obrázek 3 Výsledné výtisky potravinářských hmot

A) Hustota výplně 10 %

B) Hustota výplně 60 %

C) Vytištěný vzorek těsta



Fyzikálně-chemická analýza

Každý vzorek byl měřen třikrát v paralelním stanovení, ze kterého byly vypočteny průměrné hodnoty a standardní odchylka. Chemické složení vzorku 1 je uvedeno v **tabulce 2**.

Tabulka 2 Chemické složení vzorku 1

Obsah vody (%)	Tuk (%)	Protein (%)	Popel (%)	pH	Aktivita vody
67.31 ± 2.09	16.80 ± 0.84	$6.64 \pm 0,39$	2.81 ± 0.08	5.82 ± 0.12	0.955 ± 0.007

Závěr

V této práci byla tiskárna Ender 3 předělána na tiskárnu schopnou tisknout nízko viskózní a středně viskózní potravinářský materiál se zásobníkem o objemu 200 ml (maximální rozměry tištěného předmětu: X = 232 mm, Y = 232 mm, Z = 250 mm). Všechny části modelu byly vytištěny na 3D tiskárně Ender 3 vyrobené z materiálu PLA (kyselina polylaktická) a následně zkonstruovány za použití standardních spojovacích materiálů (šrouby, závitová tyč, matice). Zaměřili jsme se především na tisk veganské paštiky (obrázek 1), a to z důvodu vhodného chemického složení tohoto produktu pro naši tiskárnu. Nejdůležitější parametry pro potisk tohoto materiálu jsou hustota výplně (60 %) a výška vrstvy (1 mm). Díky vyhřívané podložce byla možná manipulace s vytištěným vzorkem a možnost následného tepelného zpracování ihned po vytištění modelu. U všech vzorků byl analyzován obsah vody, obsah tuku, popel, bílkoviny, aktivita vody a hodnota pH. V budoucím výzkumu bychom chtěli použít kontinuální proces namísto diskontinuálního a využít naši technologii pro tisk kultivovaného masa.

Poděkování

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A2_FPBT_2021_046.

Literatura

- [1] Rando, P., Ramaioli, M. (2021). Food 3D Printing: Effect of Heat Transfer on Print Stability of Chocolate. *Journal of Food Engineering*, 294 (1).
- [2] Chen, H., Xie, F., Chen, L., Bo, Z. (2019) Effect of rheological properties of potato, rice and corn starches on their hot – extrusion 3D printing behaviors, *Journal of Food Engineering*, 244, 150-158.
- [3] Liu, Z., Zhang, M., Bhadari, B., Yang, C. (2018). Impact of Rheological Properties of Mash Potatos on 3D Printing, *Journal of Food Engineering*, 220, 1-7.
- [4] 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.
- [5] Arianna, D., Xiuping, D., Bhesh, B., Sangeeta, P. (2021). The role of hydrocolloids on the 3D printability of meat products, *Food Hydrocolloids*, 119.
- [6] Liu, C., Ho, C. and Wang, J. (2018). The development of 3D food printer for printing fibrous meat materials. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 284(1).
- [7] Dick, A., Bhandari, B. and Prakash, S. (2019). 3D printing of meat. *Meat Science*, 153(January), 35–44.

Moderné trendy odstraňovania nežiadúcich látok z potravín.

Current trends in mitigation of objectional compounds from foods.

Peter Šimko, Lukáš Kolarič

Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,
Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava,
Slovenská republika.

Abstract

Elevated cholesterol intake can affect negatively development of cardiovascular diseases in man, especially during long lasting animal foods consumption. Therefore, this work deals with physico-chemical processes able to decrease cholesterol content in milk and dairy products by β -cyclodextrin application, evaluation of statistic data relating food consumption in Slovak Republic in 2020 aimed at total cholesterol daily intake and effects of “milky” cholesterol content decrease on total cholesterol balance. On the base of food consumption data analysis it was found that total per capita daily cholesterol intake was 391.9 mg, from which 93.6 mg was assigned to the cholesterol contained in milk and dairy products while application of cholesterol removal procedure could decrease that total per capita daily cholesterol intake to 300.1 mg (rest “milky” cholesterol amount would be equal to 1.8 mg) what is just the limit of recommended value of 300 mg daily intake valid in Slovak Republic. So, this approach would be one of meaningful steps to weaken health problems associated with long term over limited intake of cholesterol contained in foods of animal origin.

Abstrakt

Dlhotrvajúci denný príjem cholesterolu z potravín živočíšneho pôvodu je príčinou vzniku kardiovaskulárnych ochorení. Z tohto dôvodu sa táto práca venuje procesom umožňujúcim znížiť obsah cholesterolu v mlieku a mliečnych výrobkoch pomocou β -cyclodextrínu, vyhodnoteniu denného príjmu cholesterolu obyvateľa SR v r. 2020 a vplyvu zníženia obsahu „mliečného“ cholesterolu na hodnotu celkového denného príjmu. Na základe údajov Štatistického úradu SR bolo zistené, že priemerný denný príjem obyvateľa SR v r. 2020 bol 391,9 mg, z toho 93,6 mg pripadalo na cholesterol z mlieka a mliečnych výrobkov. Po aplikácii technológie eliminácie cholesterolu, schopnej odstrániť 98,1 %

pôvodného obsahu by tak zvyškový príjem „mliečného“ cholesterolu bol len 1,8 mg, čo by predstavovalo hodnotu celkového príjmu cholesterolu 300,1 mg, čo je v súlade Odporúčanými výživovými dávkami obyvateľstva SR. Tento prístup by mohol predstavovať jeden z významných krokov smerujúcich k zníženiu príjmu celkového množstva cholesterolu, čo by mohlo znížiť intenzitu výskytu kardiovaskulárnych chorôb v populácii obyvateľstva SR.

Kľúčové slová: bezpečnosť potravín; cholesterol; denný príjem; kardiovaskulárne ochorenia; funkčné potraviny

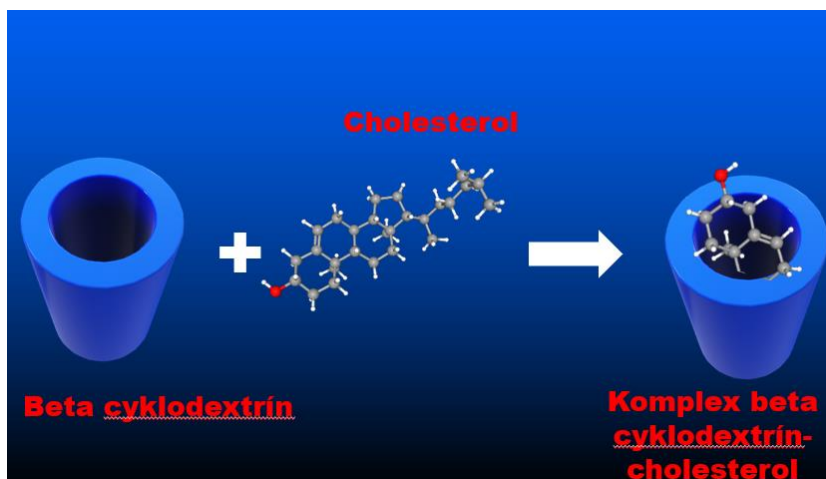
Úvod

Príjem cholesterolu zo stravy je jeden z aktuálnych problémov modernej výživy človeka, a to najmä v rozvinutých krajinách sveta. Nadmerný denný príjem spolu so sedavým štýlom života má za následok, že sa cholesterol vo zvýšenej miere ukladá v kardiovaskulárnom systéme človeka, čo vedie k závažným ochoreniam, končiacich v konečnom dôsledku k smrti. Úmrtie na tieto choroby je na prvom mieste príčin úmrtí a to nie je v Slovenskej republike, ale aj ostatných rozvinutých krajinách. Z týchto dôvodov sa tento príspevok venuje problematike riešenia tejto situácie v Slovenskej republike.

Cholesterol

Cholesterol je kontroverzná zlúčenina, pretože patrí medzi zlúčeniny nevyhnutné pre život. Na druhej strane, príjem cholesterolu pri vyšších koncentráciách vedie v dlhodobom časovom horizonte k jeho hromadeniu v kardiovaskulárnom systéme, čo nakoniec vedie k závažným zdravotným komplikáciám, končiacich často smrťou jedinca. V Slovenskej republike za r. 2020 je denný príjem na úrovni 391,9 mg čo je viac o 30 % v porovnaní s Odporúčanými výživovými dávkami, platnými v Slovenskej republike [1]. Preto, znižovanie obsahu cholesterolu v potravinách môže prispieť k celkovej stratégii znižovania jeho obsahu v kardiovaskulárnom človeka. Efektívnym spôsobom znižovania obsahu cholesterolu v mlieku je aplikácia β -cyklodextrínu, ktorý je schopný vytvárať s cholesterolom selektívne inklúzny komplex na báze vzájomných fyzikálnochemických interakcií [2], dobré separovateľný jednoduchými technologickými operáciami, čo vedie k výraznému zníženiu obsahu cholesterolu v mlieku a mliečnych výrobkoch [3] a to na

úrovni zvyškových 1,9 %. Schéma interakcie je znázornená na Obr. č.1. V tomto kontexte je potrebné podotknúť, že proces odstraňovania cholesterolu z mlieka neovplyvňuje organoleptické vlastnosti mlieka, ani výrobkov z neho vyrobených, čo je základným predpokladom ich akceptácie širokou spotrebiteľskou verejnosťou.



Obr. 1. Schematické znázornenie vzniku inklúzneho komplexu.

Situácia o príjme množstva cholesterolu priemerného obyvateľa SR z jednotlivých komodít je uvedená v Tab. 1.

Tab. 1. Priemerný denný príjem cholesterolu obyvateľa SR v r. 2020.

A	B*	C**	D	E	F	G
Mlieko vrátane mliečnych výrobkov	180,1	130,0	64,1	16,4	1,2	0,4
Maslo	4,0	2690,0	29,5	7,5	0,6	0,2
Hovädzie mäso	5,3	950,0	13,8	3,5	13,8	4,6
Bravčové mäso	37,5	690,0	70,9	18,1	70,9	23,6
Bravčová masť	2,5	720,0	4,9	1,3	4,9	1,6
Hydinové mäso	25,6	730,0	51,2	13,1	51,2	17,1
Ryby	5,9	630,0	10,2	2,6	10,2	3,4
Vajcia	14,0	3840,0	147,3	37,6	147,3	49,1
Suma	274,9		391,9	100,0	300,1	100,0

Legenda:

A – Komodita

B - Spotreba [kg]

C - Obsah cholesterolu [mg/kg]

D - Denný príjem cholesterolu [mg]

E - Denný príjem cholesterolu [%]

F - Možné zníženie denného príjmu cholesterolu [mg]

G - Možné zníženie príjmu cholesterolu [%]

*Zdroj: Spotreba potravín v Slovenskej republike v r. 2019, Štatistický úrad Slovenskej republiky

** Zdroj: Banka dát o zložení potravín

Stĺpec A udáva komoditu v zmysle štatistického vykazovania ŠÚ SR, stĺpec B udáva spotrebu potravín na obyvateľa SR v r. 2020, stĺpec C udáva obsah cholesterolu v jednotlivých komoditách v mg/kg. Stĺpec D udáva denný príjem cholesterolu obyvateľa SR z jednotlivých komodít v mg. Stĺpec E udáva množstvo cholesterolu v dennom príjme v %. Z neho vyplýva, že 23,9 % cholesterolu tvorí „mliečny“ cholesterol. Je zrejmé, že

eliminácia cholesterolu z mlieka umožní dosiahnuť dennú hodnotu príjmu cholesterolu 300,1 mg, ktorá je na hranici odporúčaného denného príjmu 300 mg – stĺpec F. Stĺpec G udáva, že percentuálne možno touto operáciou znížiť celkový príjem cholesterolu o 23,3%.

Záver

Z uvedených výsledkov vyplýva, že aktuálny denný príjem cholesterolu obyvateľstvom SR za r. 2020 je značne nad odporúčaným limitom a to v hodnote 391,9 mg. Tento príjem je možno ovplyvniť technologickou operáciou eliminácie cholesterolu z mlieka pomocou tvorby inklúzneho komplexu s β -cyklodextrínom. Následkom tejto operácie je možno znížiť celkový denný príjem cholesterolu na limit 300,1 mg stanovený Odporúčanými výživovými dávkami platnými v Slovenskej republike, čo by mohlo znamenať pozitívny posun v intenzite výskytu kardiovaskulárnych ochorení.

Použitá literatúra

1. Kajaba a kol. (2017). *Odporúčané výživové dávky pre obyvateľstvo SR* (9. revízia).
2. Kukula, M., Kolarič, L., Šimko, P. (2020). Decrease of cholesterol content in milk by sorption onto β -cyclodextrin crosslinked by tartaric acid, considerations and implications. *Acta Chimica Slovaca*, 13, 1-6.
3. Kolarič, L., Šimko, P. (2022). Application of β -cyclodextrin in the production of low-cholesterol milk and dairy products. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 13-22.

PodĎakovanie: Tento príspevok vznikol ako výsledok riešenia projektu APVV-18-0061, ktorý finančne podporuje Agentúra pre podporu výskumu a vývoja.

Gastroodpady – nadměrné plýtvání potravinami

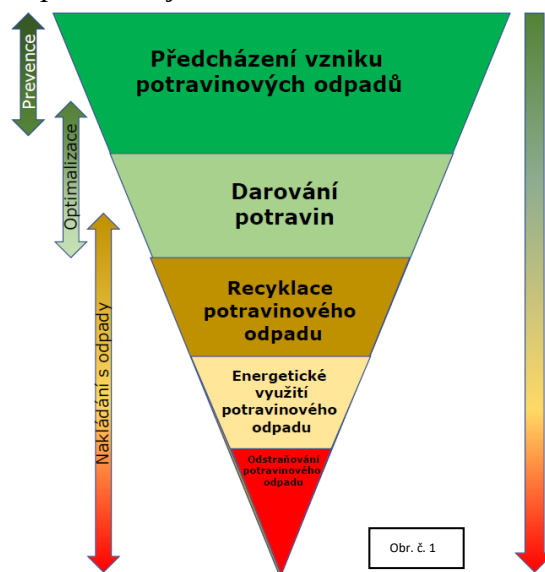
Gastro-waste - excessive food waste

Katarína Kajánková

SUEZ CZ, a.s.

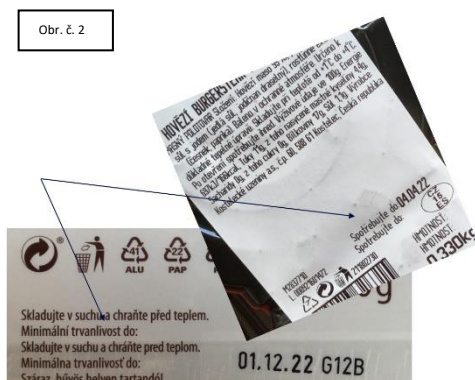
Zákon č. 541/2020 Sb. o odpadech definuje potravinový odpad jako potraviny, které se staly odpadem. Potravinový odpad vzniká v rámci každé z etap potravinového řetězce. Hotové potraviny, které jsou vyrobeny a určeny pro lidskou spotřebu a z různých důvodů se nezkonzumují, jsou významnou potravinovou ztrátou. Podle průzkumů nejvyšší podíl potravinových ztrát vzniká v důsledku plýtvání potravinami v poslední fázi potravinového řetězce – u spotřebitelů. Za gastroodpad se považuje biologicky rozložitelný odpad, který vzniká ve stravovacích zařízeních a domácnostech při přípravě jídel, vaření a zahrnuje také zbytky hotových jídel. V současnosti se vytríděný gastroodpad ze stravovacích zařízení zpracovává na bioplynových stanicích za současného získání bioplynu. Odpady z kuchyní /z domácností/ většinou končí ve směsném komunálním odpadu. Mezi závazné části Plánu odpadového hospodářství ČR patří také snižování podílu biologicky rozložitelné složky ve směsném komunálním odpadu. Pro nakládání s potravinovými odpady z domácností vznikají různé projekty pro podporu domácího kompostování, resp. odděleného soustředování potravinového odpadu. Na potravinový odpad lze alternativně nahlížet také jako potenciální zdroj dalšího využití, vzhledem k jeho složení (bílkoviny, tuky, sacharidy apod.).

Zákon o odpadech (1) definuje odpadové hospodářství jako činnost zaměřenou na předcházení vzniku odpadu, založenou na **hierarchii odpadového hospodářství**. Podle hierarchie odpadového hospodářství je prioritou předcházení vzniku odpadu, a nelze-li vzniku odpadu předejít, pak v následujícím pořadí jeho příprava k opětovnému použití, recyklace, jiné využití, včetně energetického využití, a není-li možné ani to, jeho odstranění. Pro potravinový odpad lze za „opětovné použití“ považovat „přesměrování“ nespotřebovaných potravin, které splňují požadavky pro konzumaci, do jiné oblasti lidské výživy (obr. č. 1). Tou jsou například potravinové banky. Podle Směrnice EU (2), článek 32 by v zájmu předcházení vzniku potravinového odpadu členské státy měly poskytovat pobídky pro sběr neprodaných potravinářských výrobků ve všech stupních potravinového řetězce a pro jejich bezpečné přerozdělení, mimo jiné i dobročinným organizacím. Také dle Pokynů EU k darování



potravin (3) by při předcházení vzniku potravinového odpadu by hlavním těžištěm měla být opatření u zdroje, a to omezení produkce přebytků potravin v každé fázi potravinového řetězce (tj. výroba, zpracování, distribuce a spotřeba). Vzniknou-li přebytky potravin, je nejvhodnějším určením, které zajišťuje nejvyšší zhodnocení požitelných potravinových zdrojů, jejich přerozdělení pro lidskou spotřebu.

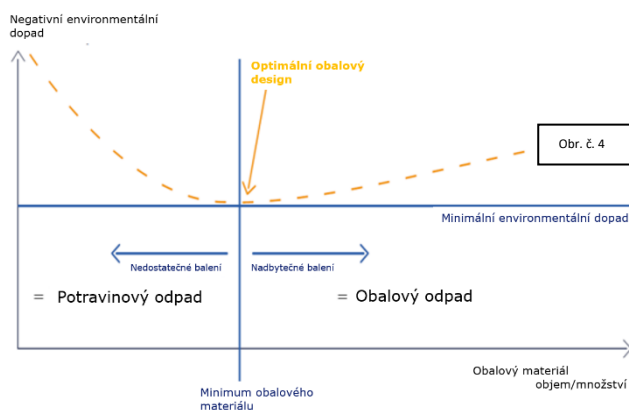
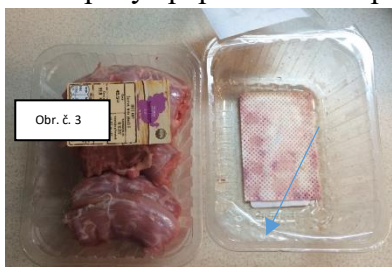
V Směrnici (2). čl. 32 se také uvádí, že v zájmu snižování potravinového odpadu by se také mělo zlepšit povědomí spotřebitelů o významu dat spotřeby a minimální trvanlivosti. Podle různých průzkumů spotřebitelé často považují pojem „datum spotřeby“ (datum použitelnosti), tj. datum po uplynutí kterého potravina přestává být bezpečnou (4), za



stejný, jako je datum minimální trvanlivosti (Obr. č. 2). Potraviny s prošlou dobou minimální trvanlivosti lze uvádět do oběhu, pouze pokud jsou zdravotně nezávadné a pokud jsou jako prošlé označeny a odděleně umístěny. Tyto změny nepředstavují riziko pro spotřebitele, potravina je tedy bezpečná, ale často budou příčinou senzorických změn výrobku. (5) Existují potraviny, které nemusí být označeny jako např. čerstvé ovoce a zelenina, alkoholické nápoje s obsahem alkoholu nejméně 10 % obj.,

pekařské výrobky, které se spotřebují do 24 hodin po výrobě apod. (6)

Pro předcházení vzniku odpadu je důležitý „informovaný spotřebitel“. Nositelem informace o nakupované potravíně pro spotřebitele je, kromě nezabalených potravin, obal. Základní funkcí obalu potravin je tuto chránit, co v podstatě znamená uchovávat vlastnosti potraviny. Aktivní složky obalu (Obr. č. 3), jako jsou například systémy založené na absorpci nežádoucích sloučenin, nejčastěji vody, také ovlivňují vlastnosti potravin a tím i dobu jejich bezpečné spotřeby. Celosvětový trend směřuje ke snižování množství obalových materiálů, především spotřebitelských obalů z důvodu vysokého podílu na množství vyprodukovaného komunálního odpadu. Jak vyplývá ze zprávy o životním prostředí ČR za rok 2020 (7) v období od roku 2009 do 2020 vzrostla produkce obalových odpadů o 48,6 %. V roce 2020 bylo v ČR vyprodukováno 1 328,7 tis. t odpadů z obalů. Střednědobě i krátkodobě lze pozorovat výrazně rostoucí trend množství obalového odpadu. Z hlediska materiálové struktury odpadů z obalů jsou nejčastěji zastoupeny papírové či lepenkové



obaly (v roce 2020 celkem 41,4 %), které jsou s velkým odstupem následovány plasty (19,9 %) a sklem (16,8 %). (7) Bezobalové obchody, trend snížit množství

obalových odpadů, zavádění obalů na opakované použití, optimalizace balení - optimální obalový design (Obr. č. 4, zdroj: www.ofi.at) apod., resp. aktivity vedoucí k udržitelnosti, ale musí být v souladu s uchováním bezpečné potravin pro celou dobu její použitelnosti.

Zavádění dalších složek obalů, resp. složek, které poskytují spotřebiteli další informace, např. o teplotě skladování po dobu distribuce, tzv. inteligentní obaly, přináší informace spotřebiteli, ale také, podobně jako u aktivní složky obalu, se jedná o další přídatnou složku obalu, která se poté stává odpadem.

Cílem Evropské komise do roku 2030 je snížení objemu potravinového odpadu, tj. předcházení a omezování vzniku potravinového odpadu, snížení plýtvání potravinami, na polovinu. Dana Tříška na konferenci „POTRAVINOVÝ ODPAD a cesty k jeho efektivnímu předcházení“ uvádí, že v roce 2019 bylo celosvětově znehodnoceno 931 mil. tun potravin, tj. 17 % prodaných potravin. (9) Podle dat Ústavu zemědělské ekonomiky a informací domácnosti v ČR vyprodukují 53 % z potravinového odpadu, dalších 19 % vznikne při zpracování a 12 % ve stravovacích službách. 11 % potravinového odpadu v ČR připadá na prvovýrobu a 5 % na obchodní síť. (9) Nejvyšší podíl potravinových ztrát na konci potravinového řetězce – ve spotřebě je uváděn i v dalších publikovaných studiích. STOA (8) uvádí 50 % podíl potravinového odpadu vyprodukovaný na konci potravinového řetězce. Pro jednotný postup stanovení množství vyprodukovaného potravinového odpadu přijala Evropská komise legislativní dokument pro společnou metodiku a minimální požadavky na kvalitu pro jednotné měření úrovně potravinového odpadu. (10)

Při vyhodnocení podílů vyprodukovaných potravinových odpadů v celém potravinovém řetězci v České republice lze použít jako výchozí údaje veřejně dostupného zdroje informací o produkci a nakládání s odpady - *Veřejné informace o produkci a nakládání s odpady* (11). Podle Katalogu odpadů (12) je produkce potravinových odpadů v rámci potravinového řetězce ze zemědělství, z výroby a zpracování potravin zařazena do společné skupiny 02 - *Odpady z prvovýroby v zemědělství, zahradnictví, myslivosti, rybářství, lesnictví a z výroby a zpracování potravin* a ze spotřeby potravin do skupiny 20 - *Komunální odpady* (odpady z domácností a podobné živnostenské, průmyslové odpady a odpady z úřadů) včetně složek z odděleného sběru. Skupina odpadů, které vznikají v zemědělství, z výroby a zpracování potravin se dále člení na:

- 02 01 Odpady ze zemědělství, zahradnictví, rybářství, lesnictví a myslivosti
- 02 02 Odpady z výroby a zpracování masa, ryb a jiných potravin živočišného původu
- 02 03 Odpady z výroby a ze zpracování ovoce, zeleniny, obilovin...
- 02 04 Odpady z výroby cukru
- 02 05 Odpady z mlékárenského průmyslu
- 02 06 Odpady z pekáren a výroby cukrovinek
- 02 07 Odpady z výroby alkoholických a nealkoholických nápojů (s výjimkou kávy, čaje a kaka)

Tyto podskupiny odpadů ale zahrnují kromě potravinových odpadů také další odpady, které vznikají v procesech získávání suroviny a výroby potravin. Pro účely porovnání s množstvím vyprodukovaných odpadů ze spotřeby bylo proto použito pouze množství

odpadu, který je zařazen pod katalogové číslo: 02 0* 04 Suroviny nevhodné ke spotřebě nebo zpracování, resp. v případě odpadů ze zemědělství 02 01 02 Odpad živočišných tkání a 02 01 03 Odpad rostlinných pletiv.

Tab. č.1 Produkce potravinových odpadů ze zemědělství a výroby v tunách (ČR)

podskupina	název	2015	2016	2017	2018	2019	2020
02 01	Odpady ze zemědělství, zahradnictví, rybářství, lesnictví a myslivosti	49 977	60 090	55 167	59 907	57 938	55 741
02 02	Odpady z výroby a zpracování masa, ryb a jiných potravin živočišného původu	6 712	7 692	7 633	5 820	5 017	5 396
02 03	Odpady z výroby a ze zpracování ovoce, zeleniny, obilovin, jedlých olejů, kaka, kávy, čaje a tabáku; odpady z konzervářského průmyslu z výroby droždí a kvasničného extraktu, z přípravy a kvašení melasy	46 606	48 720	50 871	54 627	56 769	54 066
02 04	Odpady z výroby cukru	veřejně nedostupný údaj					
02 05	Odpady z mlékářského průmyslu	1 141	1 534	1 768	2 814	3 337	3 154
02 06	Odpady z pekáren a výroby cukrovinek	16 848	19 476	19 168	19 293	18 256	16 984
02 07	Odpady z výroby alkoholických a nealkoholických nápojů (s výjimkou kávy, čaje a kaka)	5 070	5 295	5 174	4 635	4 458	2 912

zdroj: <https://isoh.mzp.cz/visoh>

Potravinové odpady z domácností jsou dle současné odpadové legislativy součástí skupiny komunálních odpadů a samostatnou skupinu tvoří potravinové odpady z kuchyní a stravoven (kat. č. 20 01 08 Biologicky rozložitelný odpad z kuchyní a stravoven, ilustrační foto, obr. č. 5). Na konferenci „POTRAVINOVÝ ODPAD a cesty k jeho efektivnímu předcházení“ bylo uvedeno, že Česká republika je v plýtvání potravinami výrazně pod průměrem EU (170 kg potravinového odpadu na osobu ročně). V ČR je produkce potravinového dopadu 56 kilogramů na obyvatele (11), co představuje cca 21,56 % SKO.



Pro využití potravinového odpadu z domácností je nevyhnutelné jeho oddělení soustřeďování. Pokud je součástí směsného komunálního odpadu, tento končí buď na skládce, nebo v zařízeních na energetické využití odpadu - spalovnách komunálního odpadu.

V případě skládkování potravinového odpadu jako součást směsného komunálního odpadu, dochází k hnilobným procesům, tj anaerobnímu rozkladu, kterého významným produktem rozkladu je metan. Při kompostování, tj. aerobním rozkladu dochází k procesu tlení a uvolňování vody a CO₂. Protože kompostovaný biologicky rozložitelný materiál rostlinného původu v průběhu svého biologického růstu vázal do CO₂ z atmosféry, je celková bilance spotřebovaného a vydaného CO₂ přibližně neutrální. (14).

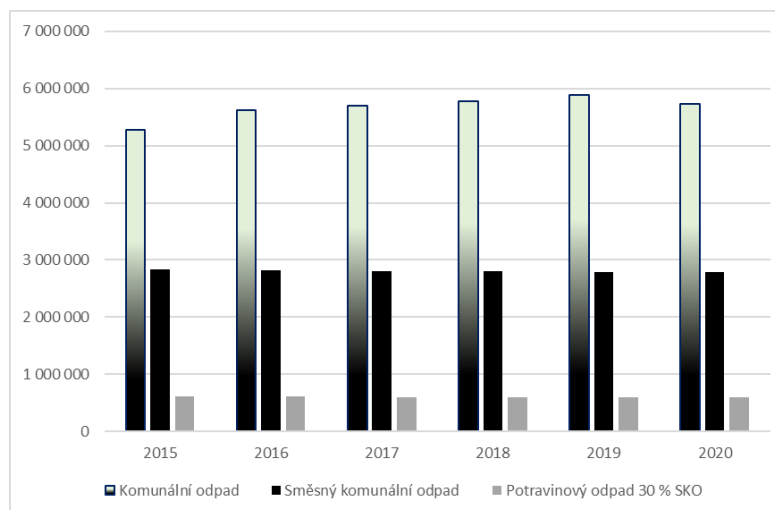
Potravinový odpad ze stravovacích zařízení, gastroodpad, který je odděleně soustředěn u původce odpadu, je zpracován na bioplynové stanici a energeticky využíván.

Graf č. 1

Množství vyprodukovaného komunálního a směsného odpadu v tunách za období 2015-2020 s 21,56 % podílem potravinového odpadu (z SKO)

zdroj:

<https://isoh.mzp.cz/visoh>



Oddělené soustředění, evidence a využití vzniknutého množství gastroodpadu ve stravovacích zařízeních nařizují ustanovení zákona o odpadech (1) a také nařízení EU (15). V legislativě je pojem „gastroodpad“ nahrazen pojmem kuchyňský odpad, potravinový odpad z domácností nebo stravovacích zařízení apod. V zákoně o odpadech (1) se uvádí, že *biologickým odpadem biologicky rozložitelný odpad ze zahrad a veřejné zeleně, potravinový a kuchyňský odpad z domácností, kanceláří, restaurací, velkoobchodu, jídelen, stravovacích nebo maloobchodních zařízení a srovnatelný odpad ze zařízení potravinářského průmyslu*. Tento je součástí skupiny biologicky rozložitelných odpadů (BRO), resp. biologicky rozložitelných komunálních odpadů (BRKO), který lze materiálově nebo energeticky využít.

Potravinové odpady z domácností, hlavně tekuté, končí často také v kanalizaci. Z výzkumu provedeného prostřednictvím platformy Ipsos Instant Research (16) vyplynulo, že více než 50 % dotazovaných používá toaletu k odstraňování potravinového odpadu. Až 21 % dotázaných využívá toaletu k odstranění odpadních olejů. Tento způsob zpracování kuchyňských odpadů je v rozporu s platnou legislativou, neboť jde o porušení kanalizačního řádu. Podobně, používání kuchyňských drtičů na odstraňování kuchyňských odpadů, pokud jsou napojené přímo na kanalizaci je v rozporu s platnou legislativou. Mezi nejpraktičtější využití potravinových odpadů se nabízí zkrmování. Podle vyhlášky (17) ale kuchyňské odpady nesmí být používány ke krmení zvířat, kromě výjimek (toto omezení se nevztahuje na kuchyňské odpady z domácností, které nespadají do kategorie vedlejších produktů živočišného původu podle Nařízení EU (15)).

Odděleně soustředěné potravinové odpady ze stravovacích zařízení jsou ve své podstatě biologický materiál, který je po celou dobu shromažďování umístěn do chladících zařízení a předáván k využití v relativně krátké době po vzniku. Tento zachovaný materiál není pouze vhodným materiálem ke kompostování (především rostlinné složky nebo hygienizované živočišni) a k výrobě, ale může být také výchozí surovinou pro alternativní využití svých složek, kterými jsou sacharidy, lipidy a proteiny. Při analýze směsného vzorku gastroodpadu bylo zjištěno, že analyzovaný vzorek obsahoval 1-2 g/100 ml tuku, 2,5 – 3,5 g/100 ml bílkovin a 8-11 g/100 ml sacharidů.

Možná se představa získávání surovin pro opětovnou výrobu potravin nebo krmiva z odpadu jeví v současnosti jako příběh sci-fi, ale získáním elementárních složek z vytríděného biologického potravinového odpadu můžeme získat i např. surovinu pro výrobu doplňků stravy. Zásadním pro další využití se jeví, kromě kvality vstupu, také konstantní složení gastroodpadu.

Zdroje:

Zákon č. 541/2021 Sb. o odpadech (1)

SMĚRNICE EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (EU) 2018/851 ze dne 30. května 2018, kterou se mění směrnice 2008/98/ES o odpadech (2)

NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 178/2002 ze dne 28. ledna 2002, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví postupy týkající se bezpečnosti potravin; aktualizace 26.5.2021 (2)

SDĚLENÍ KOMISE Pokyny EU k darování potravin (2017/C 361/01) (3)

NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům (4)

EU chce zrušit nápis „minimální trvanlivost“ na potravinách. (8.12.2021) (5)

<https://www.denik.cz/ekonomika/eu-chce-zrusit-napis-minimalni-trvanlivost-na-potravinach.html>

Datum minimální trvanlivosti a datum použitelnosti (21.7.2015) (6)

<https://www.szpi.gov.cz/clanek/datum-minimalni-trvanlivosti-a-datum-pouzitelnosti.aspx>

Zpráva o Životním prostředí ČR za rok 2020 (7)

Technologické možnosti, jak nasytit 10 miliard lidí. Možnosti snížení plýtvání potravinami. Shrnutí. IP/A/STOA/FWC/2008-096/Lot7/C1/SC2 – SC4. Říjen 2013 (8)

konference: POTRAVINOVÝ ODPAD a cesty k jeho efektivnímu předcházení (9)

<https://www.socr.cz/udalost/konference-potravinovy-odpad-a-cesty-k-jeho-efektivnimu-predchazeni>

ROZHODNUTÍ KOMISE V PŘENESENÉ PRAVOMOCI (EU) 2019/1597 ze dne 3. května 2019, kterým se doplňuje směrnice Evropského parlamentu a Rady 2008/98/ES, pokud jde o společnou metodiku a minimální požadavky na kvalitu pro jednotné měření úrovně potravinového odpadu (10)

Veřejné informace o produkci a nakládání s odpady (11)

<https://isoh.mzp.cz/visoh>

Vyhláška č. 8/2021 Sb. o Katalogu odpadů a posuzování vlastností odpadů (Katalog odpadů) (12)

Češi plýtvají potravinami výrazně méně, než je průměr EU. 8.12.2021 (13)

<https://www.mpo.cz/cz/rozcestnik/pro-media/tiskove-zpravy/cesi-plytvaji-potravinami-vyrazne-mene--nez-je-prumer-eu--264887/>

Co je bioodpad? (14)

<https://www.kompostuj.cz/vime-jak/jak-tridit-kuchynske-zbytky/co-je-bioodpad/>

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 ze dne 21. října 2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě, a o zrušení nařízení (ES) č. 1774/2002 (nařízení o vedlejších produktech živočišného původu) (15)

<https://www.ipsos.com/en-ch/food-beverage-trends> (16)

Vyhláška č. 299/2003 Sb. o opatřeních pro předcházení a zdolávání nákaz a nemocí přenosných ze zvířat na člověka (17)

Abstract

Food waste is generated at each part of the food chain. Foods that are produced and intended for human consumption and not consumed for various reasons are a significant food loss. According to research, the highest share of food losses is due to food waste at the last stage of the food chain – consumers. Kitchen waste is considered to be biodegradable waste that is generated in catering establishments and households during preparation, cooking and also includes leftover food. Biodegradable waste from catering facilities is processed at biogas plants with simultaneous biogas production or at composting plants. Food waste from households usually ends up in mixed municipal waste. Food waste can also be seen as a potential source of further use, due to its composition (proteins, fats, carbohydrates, etc.).

Potravinový odpad vzniká v rámci každé z etap potravinového řetězce. Hotové potraviny, které jsou vyrobeny a určeny pro lidskou spotřebu a z různých důvodů se nezkonzumují, jsou významnou potravinovou ztrátou. Podle průzkumů nejvyšší podíl potravinových ztrát vzniká v důsledku plýtvání potravinami v poslední fázi potravinového řetězce – u spotřebitelů. Za gastroodpad se považuje biologicky rozložitelný odpad, který vzniká ve stravovacích zařízeních a domácnostech při přípravě, vaření a zahrnuje také zbytky hotových jídel. Biologicky rozložitelný odpad ze stravovacích zařízení se zpracovává na bioplynových stanicích za současného získání bioplynu anebo na kompostárnách. Potravinové odpady z domácností většinou končí ve směsném komunálním odpadu. Na potravinový odpad lze nahlížet také jako potenciální zdroj dalšího využití, vzhledem k jeho složení (bílkoviny, tuky, sacharidy apod.).

R4

Vybrané parametry kvality jablek sušených na vzduchu předem ošetřených vysokým tlakem, ultrazvukem a pulzním elektrickým polem – srovnávací studie

Selected Quality Parameters of Air-Dried Apples Pretreated by High Pressure, Ultrasounds and Pulsed Electric Field—A Comparison Study

Wiktor¹, A.; Landfeld², A.; Matys¹, A.; Novotná², P.; Dadan¹, M.; Kovářiková², E.; Nowacka¹, M.; Mulenko³, M.; Witrowa-Rajchert¹, D.; Strohm², J.; Houška², M.

1) Department of Food Engineering and Process Management, Institute of Food Sciences, Warsaw University of Life Sciences-SGGW, 02-776 Warszawa, Poland;

2) Food Research Institute Prague, 102 00 Prague, Czech Republic;

3) Department of Process Engineering, Faculty of Mechanical Engineering, Czech Technical University in Prague, 166 36 Prague, Czech Republic

Abstrakt

Cílem práce bylo porovnat vybrané fyzikálně-chemické vlastnosti jablek „*Golden Delicious*“ sušených na vzduchu, předem upravených buď vysokotlakým zpracováním (HPP), ultrazvukem (US) a pulzním elektrickým polem (PEF). Byly použity následující parametry úpravy: HPP – 400 MPa po dobu 15 min, US – 21 kHz, 180 W po dobu 45 minut, PEF – 1 kV/cm, 3,5 kJ/kg. Hodnotila se kvalita materiálů svými rehydratačními vlastnostmi, hygroskopicitou, barvou a celkovým obsahem fenolů. Pro srovnání účinnosti použitých metod byly vlastnosti vyjádřeny jako relativní oproti referenčnímu vzorku získanému bez jakékoli předběžné úpravy za stejných podmínek sušení. Výzkum ukázal, že vlastnosti lze ovlivnit aplikací správné metody předúpravy. Ukázalo se, že PEF je nejlepší metodou pro zlepšení absorpce vody během rehydratace, zatímco HPP byl nejúčinnější při snižování hygroskopických vlastností ve srovnání s neošetřenými sušenými jablky. Mezi zkoumanými metodami HPP způsobila největší zhnědnutí a tím i celkový barevný rozdíl, zatímco účinky US a PEF na barvu byly srovnatelné. U všech předem upravených sušených jablek byl celkový obsah fenolů nižší ve srovnání s referenčním materiálem, i když nejmenší pokles byl zjištěn ve vzorcích ošetřených ultrazvukem.

Abstract

The aim of this work was to compare selected physicochemical properties of air dried ‘*Golden Delicious*’ apples, pretreated either by high-pressure processing (HPP), ultrasound (US) or pulsed electric field (PEF). Following parameters of pretreatment were used: HPP – 400 MPa held for 15 minutes, US – 21 kHz, 180 W held for 45 minutes, PEF – 1 kV/cm, 3.5 kJ/kg. The quality of materials was evaluated by their rehydration properties, hygroscopicity, color and total phenolic content. To compare the effectiveness of the utilized methods, determined properties were expressed as relative comparison

values against the reference sample obtained without any pretreatment in the same conditions. The performed research demonstrated that properties can be influenced by the application of proper pretreatment methods. PEF was shown to be the best method for improving water uptake during rehydration, whereas HPP was the most effective in decreasing hygroscopic properties in comparison with untreated dried apples. Among the investigated methods, HPP resulted in the deepest browning and thus total color difference, while the effects of US and PEF were comparable. For all pretreated dried apples, the total phenolic content was lower when compared with reference material, though the smallest drop was found in sonicated samples.

Klíčová slova: *plátky jablek, předzpracování vysokým tlakem, ultrazvukem a pulzním elektrickým polem, hydratace, hygroskopicity, barva, obsah fenolických látek*

Poděkování: Tato práce byla podpořena projektem programu EU Horizont 2020 č. 817683 „Innovative down-scaled FOOd Processing „FOX“

1. Úvod

Přestože je sušení jednou z nejstarších metod konzervace a zpracování potravin, stále patří k nejoblíbenějším technikám používaných v potravinářské technologii. Globální trh se sušenými potravinami neustále roste. Odhaduje se, že v nadcházejících letech poroste s SRNR (složená roční míra růstu) 5,3–7,4 % [1,2]. Sušení jako proces založený na přenosu tepla a hmoty však patří k jednomu z energeticky nejnáročnějších jednotkových operací používaných v potravinářském průmyslu s podílem 12–20 % na celkové spotřebě energie ve výrobních procesech [3,4]. Postup sušení „pevných“ potravin může být podpořen porušením buněčné struktury materiálu a takového technologického cíle lze dosáhnout předúpravou materiálu. Předúpravu lze provádět pomocí mechanických, tepelných nebo netepelných technik [5–8]. Vysokotlaké zpracování (HPP), ultrazvuk (US) a ošetření pulzním elektrickým polem (PEF) jsou považovány za nejoblíbenější a nejslibnější mezi metodami netepelného zpracování, které lze také použít ke zlepšení procesů přenosu hmoty a tepla. [9]. Ošetření HPP obvykle zahrnuje úpravu pevných a tekutých potravin tlakem v rozsahu 100–800 MPa. Takové ošetření může vést k částečné nebo úplné inaktivaci mikroorganismů a enzymů se zanedbatelným) nepříznivým účinkem na bioaktivní sloučeniny [10]. V současné době se tato metoda používá především v komerčním měřítku pro konzervaci šťáv a smoothies [11]. To souvisí se skutečností, že HPP ovlivňuje polymerní struktury stabilizované nekovalentními vazbami, jako jsou proteiny nebo sacharidy, ale nemá žádný vliv na kovalentní vazby. Vysoký tlak také vyvolává dočasné objemové změny, které spolu se změnami sekundárních a terciárních struktur proteinů mohou vést k nevratné ztrátě integrity buněčné struktury [12]. Zvýšení permeability buněčných membrán usnadňuje přenos hmoty. V literatuře bylo již dříve prokázáno, že HPP může zlepšit sušení rostlin – jako je mrkev, jablka, zelené fazolky [13] nebo ananas [14]. Hlavní nevýhodou HPP jako metody je obecně vysoká cena zařízení a jeho vsádkový charakter.

Sonikace je v USA dalším příkladem vznikající, netepelné technologie. Ultrazvuk působí mechanickými vlnami na frekvencích 0,02–100 MHz. Tyto vibrace mohou stimulovat

kapaliny k inerciální a neinerciální kavitaci [15,16]. V případě inerciální kavitace vznikají bubliny, rostou, jejich objem se zvětšuje a v určitém okamžiku implodují, což vytváří rázovou vlnu. Obvykle, aby k inerciální kavitaci došlo, musí být amplituda akustického tlaku vyšší než konkrétní prahová hodnota. Když bubliny prudce nekolabují, ale naopak oscilují ve velikosti a objemu, kavitace je neinerciální [17]. V závislosti na kavitaci se mohou mikrostrukturální změny tkáňového materiálu lišit. V současnosti se však předpokládá, že oba typy kavitace mohou zlepšit propustnost membrány [18]. Jev, který úzce souvisí s kavitací a který se může objevit v tkáňovém materiálu, se nazývá „efekt houby“. Mechanické vlny, které se šíří materiálem, vyvolávají oscilační zředění a stlačení upravovaného materiálu. Tyto mechanické změny materiálu mohou být spojeny se vznikem tzv. mikrokanálů podporujících přenos hmoty v materiálech vystavených akustickému tlaku [19,20]. V literatuře je mnoho příkladů využití ultrazvuku tímto způsobem – od extrakce a emulgace [21,22] přes zmrazení [23] až po osmotickou dehydrataci [16,24,25]. Bylo také popsáno, že sonikace zintenzivňuje postup sušení různých materiálů, jako jsou ostružiny [26], maliny [6], hrušky [27] nebo mrkev [28]. Jednou z nejdůležitějších výhod ultrazvuku je jeho relativně levné vybavení potřebné k provedení ošetření. Hlavní nevýhodou sonikace porézního materiálu je však pravděpodobně malá hloubka penetrace, díky čemuž je tato metoda vhodná pouze pro tenké výrobky [29].

Úprava PEF zahrnuje využití externích krátkých pulzů s vysokou intenzitou elektrického pole pro úpravu potravin umístěných mezi dvěma elektrodami. Expozice buněčných biologických systémů pro PEF vede k reverzibilní nebo ireverzibilní elektroporaci. Tento jev zvyšuje propustnost buněčných membrán v důsledku tvorby a růstu transmembránových pórů a/nebo porušení buněčné kontinuity [30]. Existuje mnoho příkladů úspěšné aplikace PEF při zpracování potravin [31]. Porušená buněčná struktura má za následek lepší extrakci různých sloučenin [32], lepší zmrazení [33], osmotickou dehydrataci [34] nebo konzervaci šťáv [35]. PEF byl také implementován v průmyslovém měřítku, většinou pro zpracování brambor [36]. Lze nalézt příklady pozitivních dopadů předúpravy PEF na kinetiku sušení a kvalitu produktu. Bylo nedávno prokázáno, že PEF zkracuje dobu sušení pastináku [37] a cibule [38]. Navíc aplikace PEF může pozitivně ovlivnit kvalitu suchého materiálu, jak bylo ukázáno na příkladu manga [39]. Ve srovnání s HPP je PEF levnější metodou a lze ji aplikovat pomocí kontinuálních režimů. Jednou z největších výhod PEF je jeho objemový charakter, díky kterému je tato technika jedinečná ve srovnání s ultrazvukem.

HPP, US a PEF umožňují dosahovat podobných technologických cílů pomocí odlišného mechanismu působení. Cílem této práce tedy bylo porovnat vybrané fyzikálně-chemické vlastnosti jablek „Golden Delicious“ sušených na vzduchu, předem zpracovaných buď HPP, US nebo PEF.

2. Materiál a metody

2.1. Materiály

Byla použita jablka odrůdy „Golden Delicious“ bez zjevného poškození s podobnými rozměry a podobnou barvou. Jablka byla skladována při teplotě 4–5 °C a před každým

experimentem byla vyjmuta z chladného skladu a ponechána při pokojové teplotě k vyrovnání teploty. Poté byla omyta pitnou vodou.

2.2. Technologické metody

Vzorky byly před sušením předem upraveny pomocí HPP, US nebo PEF s použitím parametrů uvedených v tabulce 1. Parametry předúpravy použité ve studii byly vybrány na základě předběžných experimentů (data nejsou uvedena) souvisejících s měřením elektrické vodivosti a mechanických vlastností. V závislosti na metodě byly kvůli technologickým omezením vzorky buď nařezány na plátky o tloušťce 5 mm (US a kontrola) nebo byly ošetřeny jako celek (PEF, HPP) a přímo před sušením nakrájeny na stejně velké kusy.

Tab. 1 Základní parametry metod předzpracování aplikované před sušením

Metody předzpracování	Parametry
HPP	400 MPa, 15 min
US	21 kHz, 180 W, 45 min
PEF	1 kV/cm, 3,5 kJ/kg

2.2.1. Vysokotlaké zpracování (HPP)

Úprava syrových celých jablek vysokým tlakem byla provedena na vysokotlakém lisu CYX 6/0103 (ŽDAS as, Žďár nad Sázavou, Česká republika), který je znázorněn na obrázku 1. Objem komory je 2 L, vnitřní průměr komory 90 mm, výška 320 mm a maximální dosažitelný tlak 450 MPa. Suroviny byly vloženy do plastových PA/PE sáčků a naplněny pitnou vodou (20–25 °C). Sáček byl poté utěsněn s minimem vzduchu uvnitř a umístěn do komory částečně naplněné vodou. Poté bylo na komoru nasazeno horní víko a zajištěno rámem lisu. Tlak a doba výdrže na tlaku byly řízeny automaticky. Teplota obsahu komory se pohybovala od 21 do 25 °C.



Obr. 1 Fotografie vysokotlakého lisu CYX 6/0103 (vlastní zpracování).

2.2.2. Ultrazvuk (US)

Sonikace byla aplikována po dobu 45 minut pomocí ultrazvukové lázně (MKD-3, MKD Ultrasonics, Varšava, Polsko) pracující při frekvenci 21 kHz a výkonu 180 W (vnitřní rozměry: 240 × 140 × 110 mm), která odpovídala intenzitě ultrazvuku 1,8 W na gram jablečné tkáně. Lázeň byla naplněna destilovanou vodou o teplotě místnosti (20 ± 1 °C).

Materiál byl umístěn do kádinky obsahující vodu z vodovodu o pokojové teplotě (20 ± 1 °C). Poměr mezi vodou a materiálem byl 1:4. Po sonikaci byly plátky jablek odděleny pomocí síta a osušeny savým papírem.

2.2.3. Pulzní elektrické pole (PEF)

Pulzní elektrické pole bylo generováno systémem PEF Pilot (Elea Vertriebs- und Vermarktungsgesellschaft GmbH, Quakenbrück, Německo) při intenzitě elektrického pole 1,0 kV/cm a energetickém příkonu 3,5 kJ/kg. Systém poskytoval monopolární, téměř pravoúhlé pulzy o šířce 4 μ s. Celá jablka (cca 250 g) byla umístěna do ošetrovací cely a naplněna vodou z vodovodu (21 ± 1 °C) do 1 kg. Poté byla komora uzavřena speciálním víkem, aby bylo zajištěno, že všechna jablka jsou zakryta a ponořena ve vodě. Mezera mezi elektrodami z nerezové oceli byla 24 cm. Po aplikaci PEF byl materiál vyjmut z komory, vysušen savým papírem a nakrájen na plátky o tloušťce 5 mm.

2.2.4. Konvektivní sušení

Neošetřená a předem zpracovaná jablka byla podrobena konvektivnímu sušení na vzduchu (konvektivní sušení – CD) v prototypové laboratorní sušárně (Varšava, Polsko nebo Praha, Česká republika) při teplotě 70 °C a rychlosti vzduchu $1,5 \pm 1$ m/s. Hmotnost jablek byla monitorována v průběhu celého procesu pomocí váhy připojené k počítači, který sloužil jako záznamník dat. Sušení bylo prováděno, dokud jablka nedosáhla konstantní hmotnosti alespoň po dobu 15 minut, a doba sušení byla vyjádřena jako sušení potřebné k dosažení relativního vlhkostního poměru $MR=0,02$. $MR=u_{\tau}/u_0$, kde u_0 je počáteční obsah vlhkosti a u_{τ} je obsah vlhkosti v okamžiku τ sušení.

2.3. Analytické metody

2.3.1. Obsah sušiny (DM)

Obsah sušiny byl stanoven pomocí gravimetrické metody podle postupu AOAC [42]. Analýzy byly provedeny trojmo.

2.3.2. Vodní aktivita

Aktivita vody byla měřena při 25 ± 1 °C pomocí kalibrovaných přístrojů (AW Sprint, Novasina; AquaLab, Decagon, Mnichov, Německo) alespoň trojmo.

2.3.3. Rehydratační vlastnosti

Jeden plátek vysušeného materiálu byl přidán do kádinky se 100 ml destilované vody při 20 °C po dobu 1 hodiny [43]. Po této době byl vzorek tekutiny filtrován přes síto a filtrační papír. Následně byl vzorek zvážen a byla stanovena sušina. Experiment byl opakován nejméně třikrát. Podle níže uvedených rovnic byly rehydratační vlastnosti vyjádřeny jako bezrozměrné hodnoty rychlosti rehydratace (X) a ztrát rozpustných pevných látek (SSL) jako funkce doby rehydratace.

$$X = u_{\tau}/u_0,$$

$$SSL = (m_{\tau} \cdot dm_{\tau}) / (m_0 \cdot dm_0),$$

kde m_τ je hmotnost rehydratovaného materiálu v čase τ procesu, m_0 je počáteční hmotnost vzorku rehydratovaného materiálu, $u_{\tau\tau}$ je hmotnost vody ve vzorku po době rehydratace τ ; m_0 je hmotnost vody v čerstvém vzorku a dm_τ , dm_0 jsou obsahy sušiny ve vzorcích po době rehydratace τ a ve vzorcích vysušených.

2.3.4. Hygroskopické vlastnosti

Hygroskopické vlastnosti H_{72h} vysušeného vzorku byly stanoveny sorpcí vodní páry vzorky umístěnými v prostředí s hodnotou vodní aktivity jedna po dobu 72 h [43] a vyjádřeny jako změna poměrů materiál-hmotnost, po 72 h, podle následující rovnice:

$$H_{72h} = m_{72h}/m_0$$

kde: m_{72h} je hmotnost materiálu po 72 h sorpce, m_0 je počáteční hmotnost vzorku. Experiment byl proveden alespoň ve třech opakováních pro každý analyzovaný vzorek.

2.3.5. Barva

Optické vlastnosti jablek byly měřeny odrazovou metodou v měřítku CIE $L^*a^*b^*$ (CM-5, Konica Minolta, Japonsko). Během měření byl nastaven zdroj světla D65, úhel 8° a standardní pozorovatel CIE 2° [44]. Analýza byla opakována alespoň pětkrát pro každou analyzovanou variantu. Na základě získaných barevných souřadnic byl vypočten celkový barevný rozdíl (TCD):

$$TCD = ((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)^{0,5},$$

kde: ΔL^* , Δa^* a Δb^* jsou rozdíly L^* , a^* a b^* mezi neošetřenými nebo ošetřenými sušenými vzorky a čerstvým (syrovým) jablkem.

2.3.6. Celkový obsah fenolických látek

Celkový obsah fenolů byl stanoven podle metodiky popsané v Nowacka et al. [45], alespoň ve dvou opakováních pro každou z testovaných variant. Stručně řečeno, 2 g vysušeného materiálu byly smíchány s 80% (v/v) vodným roztokem etanolu a homogenizovány. Poté byl homogenizovaný materiál povařen a po ochlazení byl extrakt přefiltrován do 50ml odměrné baňky. Poté byl přidán etanolový roztok, čímž bylo získáno 50 ml extraktu. Celkový obsah fenolů byl měřen pomocí 0,18 ml extraktu, který byl smíchán s 4,92 ml destilované vody, 0,3 ml Folin-Ciocalteuova činidla a po 3 minutách 0,6 ml uhličitanu sodného. Vzorky byly mezi přidáním činidel důkladně promíchány. Vzorky byly uloženy po dobu 1 hodiny ve tmě a absorbance byla měřena při 750 nm pomocí spektrofotometru (Helios Gamma, Thermo Fisher Scientific, New York, USA) proti vzorku bez přidání extraktu (slepý vzorek). Získané výsledky byly vyjádřeny v mg ekvivalentů kyseliny gallové na 100 g sušiny.

2.4. Statistické metody

Statistická analýza byla provedena pomocí softwaru společnosti TIBCO (program STATISTICA, verze 13, Palo Alto, CA, USA) a softwaru Excel (Microsoft, USA).

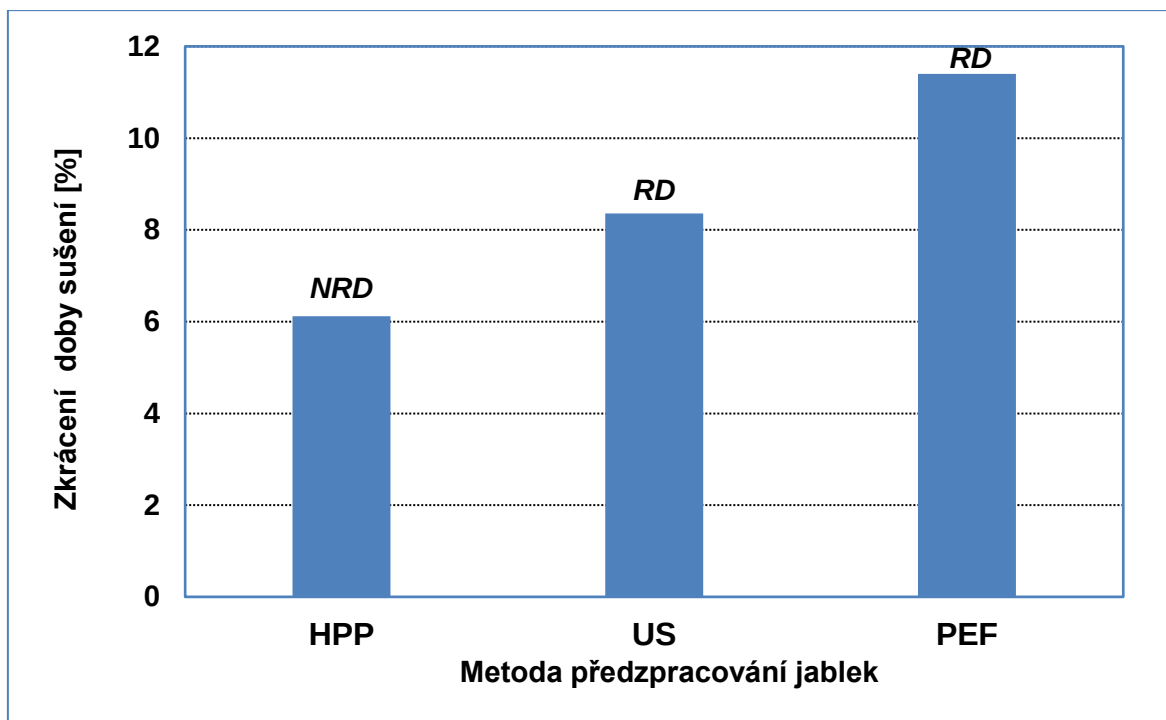
Porovnání výsledků mezi neošetřenými a ošetřenými vzorky bylo provedeno pomocí Studentova *t* testu. Kromě toho byla provedena shluková analýza (CA) s využitím Wardovy aglomerační metody a analýza hlavních komponent (PCA) s přihlédnutím ke všem vyhodnoceným relativním hodnotám.

3. Výsledky a jejich diskuse

3.1. Doba sušení

Obrázek 2 znázorňuje zkrácení doby sušení aplikací HPP, US a PEF. Největší snížení bylo zjištěno při použití metody PEF. V tomto případě bylo sušení kratší o 11,4 % ve srovnání s referenčním procesem. Literární údaje o vlivu PEF na kinetiku sušení horkým vzduchem jsou nejednoznačné. Arevalo a kol. [46] nezjistili žádný významný vliv PEF na dobu sušení, zatímco Wiktor et al. [47] již dříve prokázali, že elektrické ošetření může snížit dobu konvekčního sušení až o 13 %. U jiných matric, jako je mrkev, dosáhlo zlepšení sušení PEF dokonce 30 % ve srovnání s neošetřeným materiálem [48]. Navzdory tomu, že sušení ve všech případech probíhalo při 70 °C, parametry úpravy PEF byly odlišné, což ovlivnilo získané výsledky. Navíc k účinnosti elektroporace přispívají také fyzikální vlastnosti surovin.

Ultrazvuk zkrátil dobu sušení o 8,4 % ve srovnání s kontrolním vzorkem. Rozdíl v době sušení byl ze statistického hlediska významný jak pro PEF, tak pro ultrazvuk. Efektivnější proces odstraňování vody z jablek aplikací ultrazvuku uvedli také Galvão et al. [49] a Nowacka et al. [50]. V obou případech autoři vysvětlují své výsledky tvorbou mikrokanálů, která usnadňuje přenos hmoty při odpařování vody. Zkrácení doby sušení aplikací US bylo také prokázáno jako účinné pro matrice jiné než jablka. Například Abbaspour-Gilandeh et al. [51] ukázali, že US, aplikovaný před sušením, zkracuje sušení plodů hlohu bez ohledu na použité techniky sušení. Podobné výsledky také uvedl Taghinezhad et al. [52] pro sušení kiwi. Zkrácení doby sušení dosáhlo 6,1 %, když byl HPP aplikován před odpařením vody. Rozdíl však nebyl statisticky významný. V literatuře je několik vzácných příkladů vlivu HPP na kinetiku sušení jablek. Yucel a kol. [13] ukázali, že tlak aplikovaný před sušením může výrazně zkrátit dobu sušení jablek. Velikost účinku závisela na teplotě – čím vyšší teplota, tím méně viditelný byl dopad HPP. Například, když byla teplota 85 °C, sušení trvalo 60,75 a 60,21 minut pro neupravené a HPP (200 MPa, 45 minut), v daném pořadí. Výsledky prezentované v této práci jsou tedy v souladu s údaji uvedenými dříve. Srovnání dob sušení jablek předem zpracovaných různými netepelnými technologiemi nepřímou naznačuje, která metoda a jaký mechanismus účinku pravděpodobně způsobuje závažnější změny v mikrostruktuře. Na základě těchto údajů je PEF nejúčinnější při podpoře sušení díky svému objemovému charakteru a permeabilizaci buněčných membrán.



Obr. 2 Snížení doby sušení jablek ošetřených HPP, US a PEF, jak bylo vypočteno ve srovnání se sušením neošetřeného materiálu. RD označuje statisticky významný rozdíl, NRD označuje statisticky nevýznamný rozdíl ve srovnání s neošetřeným sušeným materiálem (Studentův t test, $\alpha = 0,05$)

3.2. Sušina, aktivita vody, rehydratace a hygroskopické vlastnosti

Syrové jablko se vyznačovalo vysokým obsahem vody. Sušina se rovnala $13,9 \pm 0,1$ %. Sušení vedlo k výraznému zvýšení obsahu sušiny u každého z materiálů a sušina se pohybovala v rozmezí 88,9 až 93,2 %. Použití vysokotlakého, ultrazvukového a pulzního elektrického pole před sušením nezpůsobilo žádné významné změny v obsahu sušiny ve srovnání s jablky, která nebyla předem zpracována. Výsledky těchto testů jsou uvedeny v tabulce 2 vyjádřené jako relativní hodnoty vztažené na vlastnosti neupraveného vysušeného materiálu.

Aktivita vody je parametr, který určuje průběh mnoha biochemických procesů v potravinách způsobených růstem mikroorganismů. Aktivita vody pod úrovní 0,6 zabraňuje růstu mikroorganismů a lze udržet stabilitu při skladování [28]. Vysušené materiály byly charakterizovány aktivitou vody v rozmezí 0,228 až 0,249, což bylo výrazně pod hodnotou 0,6. Vzorky ošetřené různými metodami předúpravy (HPP, US, PEF) se významně liší od neupravených sušených vzorků, viz Tabulka 2. V případě úpravy HPP byla zaznamenána mírně vyšší aktivita vody v sušeném materiálu ve srovnání s neupravenými vysušenými vzorky, přičemž u vzorků ošetřených US a PEF byla aktivita vody nižší ve srovnání s neporušenými vysušenými vzorky o to přibližně 4,42 a 7,23 %.

Tab. 2 Relativní hodnoty aktivity vody, obsahu sušiny, rehydratace a hygroskopických vlastností sušených jablek předem ošetřených různými metodami, vztažené na hodnoty platné pro kontrolní (neošetřený, sušený) materiál

Metoda předzpracování	Relativní odchylky vztažené na vlastnost neošetřeného vzorku [%]				
	X	SSL	H _{72h}	a _w	DM [%]
HPP	-2.13 RD	9.14 RD	-5.51 RD	4.82 RD	0.45 NRD
US	-2.84 NRD	0.4 NRD	0.75 RD	-4.42 RD	-0.54 NRD
PEF	28.57 RD	-6.76 RD	0.84 NRD	-7.23 RD	0.76 NRD

RD označuje statisticky významný rozdíl, NRD označuje statisticky nevýznamný rozdíl ve srovnání s neošetřeným sušeným materiálem (Studentův t test, $\alpha = 0,05$)

Tabulka 2 ukazuje také údaje týkající se rekonstituce (rychlost X-rehydratace a ztráty rozpustné sušiny SSL) a hygroskopické vlastnosti (H_{72h}) pro sušená jablka předem ošetřená různými metodami, vyjádřené jako relativní hodnoty vypočtené pro kontrolní materiál (sušený, bez ošetření). Rehydratace je proces opačný k procesu sušení. Během rehydratace se voda dostává do vysušených tkání a rozpustná sušina se přesouvá do vody. V důsledku rehydratace se zvyšuje hmotnost a objem sušených materiálů. Změny ve struktuře tkáně během procesu sušení a také v metodách předúpravy ovlivňují jejich schopnost vázat vodu a bránit obnovení původního objemu suroviny [28,53,54]. Pro vysušený materiál jsou podstatné jeho rekonstituční vlastnosti [55]. V případě vzorků podrobených ošetření HPP, US a PEF a konvekčnímu sušení byly pozorovány různé změny v závislosti na použitých metodách předúpravy. U vzorků ošetřených HPP byl vysušený materiál charakterizován významně nižší rychlostí rehydratace (X) přibližně 2,13 % a vyšší ztrátou rozpustné sušiny (SSL) přibližně 9,14 %. Výsledky nepotvrzují předchozí výzkum Belmiro et al. [56], který zaznamenal lepší rehydratační vlastnosti (až 2,1krát vyšší rychlost rehydratace) u sušených bobů ošetřených HPP před sušením.

Aplikace ultrazvuku (US) vedla k nižší rychlosti rehydratace a téměř nezměněné SSL, nicméně výsledky byly statisticky nevýznamné ve srovnání s neošetřeným sušeným materiálem. U tkáňového materiálu aplikace ultrazvuku obvykle ovlivňuje mikrostrukturální změny a je pozorováno zvýšení příjmu vody během procesu rehydratace. Například u mrkve podrobené sonikaci v etanolovém roztoku (až 3 minuty) s následným konvektivním sušením se rychlost rehydratace zvýšila až o 19 % ve srovnání s neporušeným sušeným vzorkem [28]. Také u ošetření US vedlo předchozí lyofilizace žampionů, růžičkové kapusty a kvěťáku k vyšším rehydratačním vlastnostem [57]. S rostoucí dobou rehydratace je však pozorována klesající rychlost v důsledku nasycení materiálu vodou [50]. V případě jablečné tkáně bylo ošetření mnohem delší a trvalo 45 minut. To mohlo negativně ovlivnit mikrostrukturu a způsobit poškození tkáně, což má za následek sníženou schopnost rehydratace.

U vzorku ošetřeného PEF před sušením bylo pozorováno významné zvýšení rychlosti rehydratace a snížení SSL. Fauster a kol. [58] pozorovali vyšší rehydratační kapacitu, až o 50 %, u vzorků lyofilizovaných jahod a červené papriky předem upravených PEF.

Možným vysvětlením těchto lepších rehydratačních vlastností je, že elektroporace způsobila tkáňové změny a zvýšila počet pórů. Podobný účinek byl také zaznamenán u červené papriky ošetřené PEF s předchozím sušením mrazem [59]. Parniakov a spol. [60] uvedli, že aplikace PEF má vliv na snížení smrštění během procesu sušení, zachování kapilárních struktur a ovlivnění rehydratačních vlastností.

Hygroskopické materiály vykazují schopnost adsorbovat vodu ve vlhkém prostředí, což způsobuje změny obsahu vody a ovlivňuje trvanlivost sušených materiálů [41,43]. Tuto vlastnost určuje struktura materiálu, takže u sušených jablek předem ošetřených HHP, US a PEF byly pozorovány změny hygroskopických vlastností. Porézní materiál obecně vykazuje dobré hygroskopické vlastnosti [28]. Výsledky ukazují, že pouze HPP a US významně změnily hygroskopické vlastnosti po 72 hodinách adsorpce vodní páry. HPP snížila kapacitu adsorpce vodní páry o cca 5,51 %, což je dobré, vzhledem k tomu, že nižší adsorpce vody pozitivně ovlivňuje stabilitu sušeného produktu během skladování. V případě sonikovaných vzorků byla pozorována mírně, ale významně zvýšená adsorpční kapacita vodní páry, zatímco u vzorků ošetřených PEF se hygroskopické vlastnosti významně nelišily od neošetřených sušených jablek. Tyto výsledky nejsou v souladu s výsledky Rybaka et al. [59], kteří zjistili, že US a PEF použité před lyofilizací vedly ke zvýšení schopnosti adsorpce vodní páry o 42 až 48 %. Zubernik a spol. [61] uvedli, že jablko sušené na vzduchu adsorbovalo 2–3,5krát méně vodní páry, když bylo předtím podrobeno sonikaci v etanolovém roztoku (až 3 minuty), ve srovnání se sušenou neošetřenou tkání. Ve srovnání s ošetřením etanolem bez ultrazvuku US však rozdíly nebyly významné. Možná, že delší doba ošetření při použití US použitá námi, přispěla k významným změnám v adsorpci vodní par.

3.3 Barva

Barva potravin se obecně měří pomocí systému $L^*a^*b^*$, ve kterém L^* označuje světlost, a^* označuje barvu od zelené ($-a^*$) po červenou (a^*) a b^* označuje barvu od modré ($-b^*$) na žlutou (b^*). Na základě alterace barevných deskriptorů, zejména parametrů a^* a b^* , je možné predikovat změny pigmentu nebo výskyt enzymatických či neenzymatických reakcí hnědnutí [62]. Relativní rozdíl barevných parametrů L^* , a^* , b^* a celkový barevný rozdíl (TCD) mezi ošetřenou a neošetřenou jablečnou tkání jsou shrnuty v tabulce 3 a znázorněny na Obr. 3. Změny barevných deskriptorů byly závislé na typu aplikovaného předchozího zpracování. Například ošetření HPP způsobilo významné zhoršení každého barevného parametru, což způsobilo ztmavnutí tkáně a zvýšení a^* i b^* chromatických parametrů. Největší změny však byly pozorovány u parametru a^* , jehož hodnota se po HPP zvýšila z 3,81 na 10,70, což odpovídalo relativnímu rozdílu o 180,8 %. Podobná tendence byla pozorována v případě ošetření PEF, u kterého byly zaznamenány nejvyšší změny deskriptoru a^* , což způsobilo posun v jeho hodnotě z -2,1 na 5,3. Relativní rozdíl byl -352,4 %. Dále byla sušená jablka ošetřená PEF charakterizována významně nižším L^* a významně vyšším a^* , zatímco hodnota b^* a TCD zůstaly nezměněny. Sonikace místo toho přispěla k významné změně pouze deskriptoru a^* . Po ošetření ultrazvukem (US) byla zaznamenána nižší záporná hodnota -2,70 ve srovnání s hodnotou pro neošetřený vzorek (-2,10). Důležité je, že ultrazvukové vlny nepřispívaly k výraznému

ztmavnutí jablek, které pravděpodobně záviselo na narušení buněk a úniku jejich buněčného obsahu, k němuž došlo při zpracování HPP a PEF, ale bylo méně intenzivní pro zpracování ultrazvukem. Tyto výsledky odpovídají dříve popsaným výsledkům týkajícím se mechanismu účinku ultrazvuku, který může způsobit určité změny buněčné struktury, ale bez úplné degradace buněčné membrány a vakuol [63]. Wibowo a kol. [64] pozorovali významně vyšší světlost zakalené jablečné šťávy po ošetření HPP i PEF ve srovnání s neošetřeným džusem. Navíc PEF přispěl také ke statisticky významnému zvýšení parametru a^* , zatímco HPP významně zvýšil hodnotu b^* . Autoři vysvětlují, že vyšší hodnota L^* způsobená PEF byla způsobena částečnou inaktivací polyfenoloxidázy (PPO) a peroxidázy (POD) a tepelným efektem (výstupní teplota byla až 74 °C). Enzymová aktivita po HPP se však statisticky nezměnila, a tak pravděpodobně k hnědnutí došlo také neenzymaticky po PEF i HPP. V případě jablečné tkáně var. *Ligol* bylo zaznamenáno výrazné ztmavnutí (pokles L^*) jablek ošetřených PEF, zejména při vyšší intenzitě elektrického pole (3 a 5 kV/cm) [65]. Někteří autoři se domnívají, že PEF podporuje ztmavnutí tkáně v důsledku vyššího uvolňování PPO a substrátů enzymatického hnědnutí [66]. Vyšší hodnoty a^* u sušených jablek ošetřených PEF získané námi tyto předpoklady potvrzují. Fijalkowska a kol. [53] zaznamenali významný nárůst hodnot L^* , a^* (posun z negativních na pozitivní hodnoty) a b^* u sušených jablek po 30 minutách sonikace při 21 kHz, ve srovnání se sušenou neošetřenou tkání odrůdy Idared. Intenzita reakcí hnědnutí závisí na odrůdě jablek a odrůda *Golden Delicious* se vyznačuje méně intenzivním jevem hnědnutí [67]. Největší rozdíl v celkovém barevném rozdílu ve srovnání s neošetřeným sušeným materiálem byl zjištěn u jablek ošetřených HPP; byl významně vyšší, o 103,64 %, což limituje využití této metody předcházející sušení [65].

Tabulka 3. Relativní hodnoty parametrů barvy sušených jablek předem ošetřených různými metodami vypočtené s ohledem na kontrolní (neošetřený) materiál.

Metoda předzpracování	Relativní rozdíly v porovnání s parametry neošetřeného materiálu [%]			
	L^*	a^*	b^*	TCD
HPP	-21.52 RD	180.84 RD	11.02 RD	103.64 RD
US	-6.33 NRD	28.57 RD	12.14 NRD	3.08 NRD
PEF	-10.55 RD	-352.38 RD	1.43 NRD	3.85 NRD

RD označuje statisticky významný rozdíl, NRD označuje statisticky nevýznamný rozdíl ve srovnání s neošetřeným sušeným materiálem (Studentův t test, $\alpha = 0,05$)

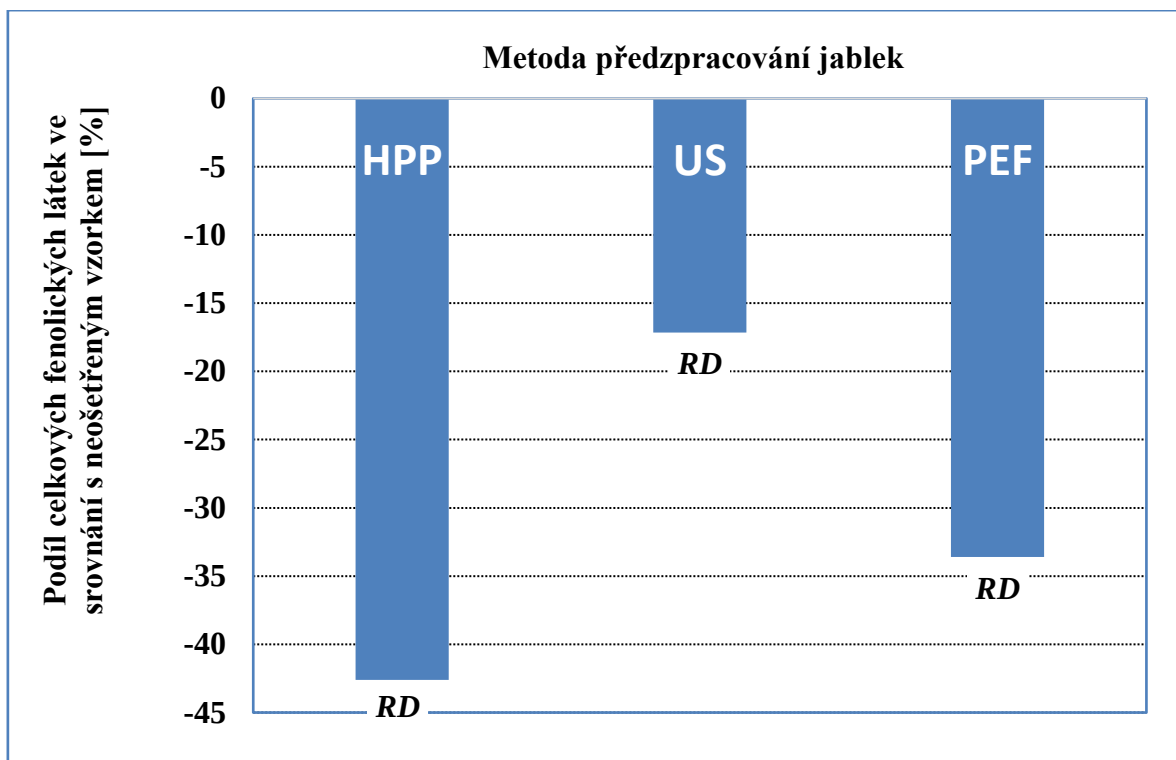


Obr. 3 Horkým vzduchem sušená jablka neošetřená a ošetřená HPP, US a PEF

3.4 Celkový obsah fenolických látek

Aplikace předúpravy, i přes její netepelný charakter, vedla k výrazné degradaci fenolických látek v produktech sušených horkým vzduchem (Obr. 4). Nejnižší retence fenolických látek byla zjištěna v případě materiálu ošetřeného HPP, kde ztráta celkového obsahu fenolů ve srovnání s neošetřenými sušenými jablky byla 42,6 %. Naopak nejvyšší degradace fenolických látek (17,1 %) byla zjištěna u sušených jablek sušených předem zpracovaných ultrazvukem (US). PEF předem zpracovaná sušená jablka vykazovala celkový obsah fenolů nižší o 33,6 % ve srovnání s referenčním materiálem. Uvádí se, že HPP může ovlivnit oxido-reduktivní enzymy v materiálu rostlinného původu a inhibovat reziduální aktivitu polyfenoloxidázy (PPO) nebo peroxidázy (POD) o 1–33 % [68]. Naprostá většina výzkumů se však zabývá buď šťávou, nebo enzymovými extrakty [69], zatímco inhibice enzymů v matricích podobných tuhým látkám může být odlišná.

Výzkum prováděný na broskvích ukázal, že aktivita PPO klesá po HPP a vakuovém balení z 232 na 106 UE/mg přímo po ošetření a ze 192 na 113 UE/mg po 21 dnech skladování při 10 °C [70]. Vzhledem k tomu, že podobné situace mohou platit i pro pletivo jablek, částečná inaktivace PPO, prasknutí pletiva v důsledku objemových změn, degradace buněčné struktury a následné vysušení může mít za následek tak vysokou degradaci fenolických látek v sušených jablkách. Podobné vysvětlení lze považovat za spolehlivé pro materiál ošetřený PEF, protože u této metody bylo rovněž uvedeno, že způsobuje částečnou inhibici PPO [70] a jak bylo vysvětleno dříve, vede k prasknutí mikrostruktur. Některé výzkumy však naznačují, že PEF může vést k vyšší inhibici PPO a POD, než HPP [64]. To by mohlo částečně vysvětlit nižší degradaci fenolických látek zjištěnou u sušených jablek předem ošetřených PEF.



Obr. 4 Relativní celkový obsah fenolů (TPC) v sušených jablkách, předem upravených různými metodami a vypočtený ve srovnání s neošetřenými sušenými vzorky. RD označuje statisticky významný rozdíl, NRD označuje statisticky nevýznamný rozdíl ve srovnání s neošetřeným sušeným materiálem (Studentův t test, $\alpha = 0,05$)

Dalším důležitým faktorem, který může takové výsledky ovlivnit, je doba zpracování. Zde byla doba výdrže na tlaku v případě HPP 15 minut, zatímco aplikace PEF trvala méně než 1 minutu. Také další existující publikace, které se věnují této problematice, potvrzují navrhované vysvětlení. Práce ukazují, že HPP a PEF mohou vést ke snížení obsahu fenolických látek v čerstvých jablkách [65,71]. Následné vystavení takto ošetřených materiálů podmínkám, které podporují oxidaci – jak k ní dochází během sušení – může tuto změnu pouze zesílit. Jak bylo uvedeno výše, tyto výsledky spolu s kinetikou sušení nepřímo demonstrují, že sonikace vedla k nejmenším změnám v buněčné struktuře, což projevilo nejnižší degradaci fenolických látek v konečném produktu. Je třeba zdůraznit, že US může také inhibovat aktivitu oxidoredukčních enzymů přítomných v potravinách [72], které, jak bylo dříve vysvětleno pro PEF a HPP, mohou ovlivnit stabilitu fenolických látek během sušení.

4. Závěry

Metody výchozího zpracování HPP, US a PEF lze použít k úpravě průběhu sušení a kvality sušených produktů. Mezi těmito metodami byl PEF nejúčinnější při zkrácení doby sušení nebo zvýšení adsorpce vody. Aplikace HPP před sušením nevedla k výraznému zkrácení doby sušení na vzduchu, způsobila největší barevnou změnu (zhnědnutí) sušeného materiálu a největší snížení fenolických látek ve srovnání s neošetřeným materiálem. Vysoká cena zařízení HPP a jeho výše uvedené nevýhody ukazují, že HPP není nezbytně lepší metodou výchozího zpracování před sušením. Výběr způsobu

výchozího zpracování by měl být proveden na základě požadovaných vlastností konečného produktu a jeho praktické aplikace.

Tato práce je společným dílem české a polské části týmu řešitelů projektu FOX, jehož výsledky byly nedávno publikovány [73]. Publikace je volně k dispozici čtenářům časopisu *Foods* a obsahuje veškeré detaily o použitých zařízeních a metodách analýz a statistickém zpracování dat.

Literatura

1. *Global Air-dried Food Market Statistics, Cagr, Outlook, And Covid-19 Impact 2021–2023*. Available online: <https://www.marketwatch.com/press-release/global-air-dried-food-market-statistics-cagr-outlook-and-covid-19-impact-2021---2023-2021-05-14> (accessed on 16 May 2021)
2. Global Dehydrated Food Market 2021 Is Expected To Register a CAGR Of 5.3% With Top Countries Data Industry Growth Analysis, Segmentation, Size, Share, Trend, Future Demand and Leading Players Updates by Forecast. Available online:
3. <https://www.wicz.com/story/44156767/global-dehydrated-food-market-2021-is-expected-to-register-a-cagr-of-53-with-top-countries-data-industry-growth-analysis-segmentation-size-share> (accessed on 17 May 2021).
4. Kemp, I.C. Fundamentals of Energy Analysis of Dryers. In *Modern Drying Technology, Energy Savings*; Tsotsas, E., Mujumdar, A.S., Eds.; Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2012; Volume 4, pp. 1–45.
5. Strumiłło, C.; Jones, P.L.; Żyłła, R. Energy Aspects in Drying. In *Handbook of Industrial Drying*; Arun, S., Mujumdar, Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2017; pp. 1075–1099.
6. Tao, Y.; Han, M.; Gao, X.; Han, Y.; Show, P.L.; Liu, C.; Ye, X.; Xie, G. Applications of water blanching, surface contacting ultrasound-assisted air drying, and their combination for dehydration of white cabbage: Drying mechanism, bioactive profile, color and rehydration property. *Ultrason. Sonochem.* 2019, 53, 192–201, doi:10.1016/j.ultsonch.2019.01.003.
7. Szadzińska, J.; Łechtańska, J.; Pashminehazar, R.; Kharaghani, A.; Tsotsas, E. Microwave- and ultrasound-assisted convective drying of raspberries: Drying kinetics and microstructural changes. *Dry. Technol.* 2019, 37, 1–12, doi:10.1080/07373937.2018.1433199.
8. Ostermeier, R.; Parniakov, O.; Toepfl, S.; Jäger, H. Applicability of Pulsed Electric Field (PEF) Pre-Treatment for a Convective Two-Step Drying Process. *Foods* 2020, 9, 512.
9. Ling, J.; Xuan, X.; Yu, N.; Cui, Y.; Shang, H.; Liao, X.; Lin, X.; Yu, J. High pressure-assisted vacuum-freeze drying: A novel, efficient way to accelerate moisture migration in shrimp processing. *J. Food Sci.* 2020, 85, 1167–1176, doi:10.1111/1750-3841.15027.
10. Witrowa-Rajchert, D.; Wiktor, A.; Sledz, M.; Nowacka, M. Selected Emerging Technologies to Enhance the Drying Process: A Review. *Dry. Technol.* 2014, 32, 1386–1396, doi:10.1080/07373937.2014.903412.

11. Ghafoor, K.; Gavahian, M.; Barba, F.J.; Xia, Q.; Denoya, G.I. An overview of the potential applications based on HPP mechanism. In *Present and Future of High Pressure Processing*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2020; pp. 3–11. ISBN 9780128164051.
12. Sehwat, R.; Pal, B.; Prabhat, K. Microbial inactivation by high pressure processing: Principle, mechanism and factors responsible. *Food Sci. Biotechnol.* **2021**, *30*, 19–35, doi:10.1007/s10068-020-00831-6.
13. Janowicz, M.; Lenart, A. The impact of high pressure and drying processing on internal structure and quality of fruit. *Eur. Food Res. Technol.* **2018**, *244*, 1329–1340, doi:10.1007/s00217-018-3047-y.
14. Yucel, U.; Alpas, H.; Bayindirli, A. Evaluation of high pressure pretreatment for enhancing the drying rates of carrot, apple, and green bean. *J. Food Eng.* **2010**, *98*, 266–272, doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.01.006.
15. Kingsly, A.R.; Balasubramaniam, V.M.; Rastogi, N.K. Effect of high-pressure processing on texture and drying behavior of pineapple. *J. Food Process Eng.* **2015**, *32*, 369–381, doi:10.1111/j.1745-4530.2007.00221.x.
16. Wu, J.; Nyborg, W.L. Ultrasound, cavitation bubbles and their interaction with cells. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2008**, *60*, 1103–1116, doi:10.1016/j.addr.2008.03.009.
17. Nowacka, M.; Dadan, M.; Tylewicz, U. Current Applications of Ultrasound in Fruit and Vegetables Osmotic Dehydration Processes. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 1269, doi:10.3390/app11031269.
18. Birkin, P.R.; Offin, D.G.; Vian, C.J.B.; Leighton, T.G. Investigation of noninertial cavitation produced by an ultrasonic horn. *J. Acoust. Soc. Am.* **2014**, *130*, 3297–3308, doi:10.1121/1.3650537.
19. Meng, L.; Liu, X.; Wang, Y.; Zhang, W.; Zhou, W.; Cai, F.; Li, F.; Wu, J.; Xu, L.; Niu, L.; et al. Sonoporation of Cells by a Parallel Stable Cavitation Microbubble Array. *Adv. Sci.* **2019**, *6*, 1900557, doi:10.1002/advs.201900557.
20. Garcia-Noguera, J.; Oliveira, F.I.P.; Gallão, M.I.; Weller, C.L.; Rodrigues, S.; Fernandes, F.A.N. Ultrasound-Assisted Osmotic Dehydration of Strawberries: Effect of Pretreatment Time and Ultrasonic Frequency. *Dry. Technol.* **2010**, *28*, 294–303, doi:10.1080/07373930903530402.
21. Nowacka, M.; Tylewicz, U.; Laghi, L.; Dalla Rosa, M.; Witrowa-Rajchert, D. Effect of ultrasound treatment on the water state in kiwifruit during osmotic dehydration. *Food Chem.* **2014**, *144*, 18–25, doi:10.1016/j.foodchem.2013.05.129.
22. Jovanović, A.A.; Đorđević, V.B.; Zdunic, G.M.; Pljevljakušić, D.S.; Šavikin, K.P.; Go, D.M.; Bugarski, B.M. Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. *Sep. Purif. Technol.* **2017**, *179*, 369–380, doi:10.1016/j.seppur.2017.01.055.
23. Zhou, L.; Zhang, J.; Yin, Y.; Zhang, W.; Yang, Y. Effects of Ultrasound-Assisted Emulsification on the Emulsifying and Rheological Properties of Myofibrillar Protein Stabilized Pork Fat Emulsions. *Foods* **2021**, *10*, 1201.

24. Ciurzyńska, A.; Kowalska, H.; Kowalska, J.; Galus, S.; Marzec, A.; Domian, E. The Effect of Pre-Treatment (Blanching, Ultrasound and Freezing) on Quality of Freeze-Dried Red Beets. *Foods* **2021**, *10*, 132.
25. Cichowska, J.; Witrowa-Rajchert, D.; Stasiak-Różńska, L.; Figiel, A. Ultrasound-assisted osmotic dehydration of apples in polyols and dihydroxyacetone (DHA) solutions. *Molecules* **2019**, *24*, 3429, doi:10.3390/molecules24193429.
26. Bozkir, H.; Rayman, A.; Serdar, E.; Metin, G.; Baysal, T. Influence of ultrasound and osmotic dehydration pretreatments on drying and quality properties of persimmon fruit. *Ultrason. Sonochem.* **2019**, *54*, 135–141, doi:10.1016/j.ultsonch.2019.02.006.
27. Tao, Y.; Li, D.; Siong, W.; Loke, P.; Yang, X.; Manickam, S.; Xie, G.; Han, Y. Comparison between airborne ultrasound and contact ultrasound to intensify air drying of blackberry: Heat and mass transfer simulation, energy consumption and quality evaluation. *Ultrason. Sonochem.* **2021**, *72*, 105410, doi:10.1016/j.ultsonch.2020.105410.
28. Önal, B.; Adiletta, G.; Di Matteo, M.; Russo, P.; Ramos, N.; Silva, C.L.M. Microwave and Ultrasound Pre-Treatments for Drying of the “Rocha” Pear: Impact on Phytochemical Parameters, Color Changes and Drying Kinetics. *Foods* **2021**, *10*, 853, doi:10.3390/foods10040853.
29. Dadan, M.; Nowacka, M. The Assessment of the Possibility of Using Ethanol and Ultrasound to Design the Properties of Dried Carrot Tissue. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 689, doi:10.3390/app11020689.
30. Schössler, K.; Thomas, T.; Knorr, D. Modification of cell structure and mass transfer in potato tissue by contact ultrasound. *Food Res. Int.* **2012**, *49*, 425–431, doi:10.1016/j.foodres.2012.07.027.
31. Mahnic-Kalamiza, S.; Vorobiev, E.; Miklavcic, D. Electroporation in Food Processing and Biorefinery. *J. Membr. Biol.* **2014**, *247*, 1279–1304, doi:10.1007/s00232-014-9737-x.
32. Barba, F.J.; Parniakov, O.; Pereira, S.A.; Wiktor, A.; Grimi, N.; Boussetta, N.; Saraiva, J.A.; Raso, J.; Martin, O.; Witrowa-Rajchert, D.; et al. Current applications and new opportunities for the use of pulsed electric fields in food science and industry. *Food Res. Int.* **2015**, *77*, 773–798, doi:10.1016/j.foodres.2015.09.015.
33. Liu, Z.W.; Zeng, X.A.; Ngadi, M. Enhanced extraction of phenolic compounds from onion by pulsed electric field (PEF). *J. Food Process. Preserv.* **2018**, *42*, e13755, doi:10.1111/jfpp.13755.
34. Wiktor, A.; Schulz, M.; Voigt, E.; Witrowa-Rajchert, D.; Knorr, D. The effect of pulsed electric field treatment on immersion freezing, thawing and selected properties of apple tissue. *J. Food Eng.* **2015**, *146*, 8–16, doi:10.1016/j.jfoodeng.2014.08.013.
35. Tylewicz, U.; Tappi, S.; Mannozi, C.; Romani, S.; Dellarosa, N.; Laghi, L.; Ragni, L.; Rocculi, P.; Dalla Rosa, M. Effect of pulsed electric field (PEF) pre-treatment coupled with osmotic dehydration on physico-chemical characteristics of organic strawberries. *J. Food Eng.* **2017**, *213*, 2–9, doi:10.1016/j.jfoodeng.2017.04.028.

36. Timmermans, R.A.H.; Mastwijk, H.C.; Berendsen, L.B.J.M.; Nederhoff, A.L.; Matser, A.M.; Van Boekel, M.A.J.S.; Groot, M.N.N. Moderate intensity Pulsed Electric Fields (PEF) as alternative mild preservation technology for fruit juice. *Int. J. Food Microbiol.* **2019**, *298*, 63–73, doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2019.02.015.
37. Fauster, T.; Schlossnikl, D.; Rath, F.; Ostermeier, R.; Teufel, F.; Toepl, S.; Jaeger, H. Impact of pulsed electric field (PEF) pretreatment on process performance of industrial French fries production. *J. Food Eng.* **2018**, *235*, 16–22, doi:10.1016/j.jfoodeng.2018.04.023.
38. Alam, R.; Lyng, J.G.; Frontuto, D.; Marra, F.; Cinquanta, L. Effect of Pulsed Electric Field Pretreatment on Drying Kinetics, Color, and Texture of Parsnip and Carrot. *J. Food Sci.* **2018**, *83*, 2159–2166, doi:10.1111/1750-3841.14216.
39. Ostermeier, R.; Hill, K.; Dingis, A.; Toepfl, S.; Jäger, H. Influence of pulsed electric field (PEF) and ultrasound treatment on the frying behavior and quality of potato chips. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2020**, *67*, 102553, doi:10.1016/j.ifset.2020.102553.
40. Lammerskitten, A.; Shorstkii, I.; Parniakov, O.; Mykhailik, V.; Toepfl, S.; Rybak, K.; Dadan, M.; Nowacka, M.; Wiktor, A. The effect of different methods of mango drying assisted by a pulsed electric field on chemical and physical properties. *J. Food Process. Preserv.* **2020**, *44*, e14973, doi:10.1111/jfpp.14973.
41. Pataro, G.; Falcone, M.; Donsì, G.; Ferrari, G. Metal release from stainless steel electrodes of a PEF treatment chamber: Effects of electrical parameters and food composition. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2014**, *21*, 58–65, doi:10.1016/j.ifset.2013.10.005.
42. Lammerskitten, A.; Mykhailik, V.; Wiktor, A.; Toepfl, S.; Nowacka, M.; Bialik, M.; Czyżewski, J.; Witrowa-Rajchert, D.; Parniakov, O. Impact of pulsed electric fields on physical properties of freeze-dried apple tissue. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2019**, *57*, 102211, doi:10.1016/j.ifset.2019.102211.
43. AOAC International. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 17th ed.; AOAC International: Rockville, MD, USA, 2002.
44. Fijalkowska, A.; Nowacka, M.; Witrowa-Rajchert, D. The physical, optical and reconstitution properties of apples subjected to ultrasound before drying. *Ital. J. Food Sci.* **2017**, *29*, 343–356.
45. Rybak, K.; Wiktor, A.; Witrowa-Rajchert, D.; Parniakov, O.; Nowacka, M. The Quality of Red Bell Pepper Subjected to Freeze-Drying Preceded by Traditional and Novel Pretreatment. *Foods* **2021**, *10*, 226, doi:10.3390/foods10020226.
46. Nowacka, M.; Wiktor, A.; Anuszevska, A.; Dadan, M.; Rybak, K.; Witrowa-Rajchert, D. The application of unconventional technologies as pulsed electric field, ultrasound and microwave-vacuum drying in the production of dried cranberry snacks. *Ultrason. Sonochem.* **2019**, *56*, 1–13, doi:10.1016/j.ultsonch.2019.03.023.
47. Arevalo, P.; Ngadi, M.O.; Bazhal, M.I.; Raghavan, G.S. V Impact of Pulsed Electric Fields on the Dehydration and Physical Properties of Apple and Potato Slices. *Dry. Technol.* **2007**, *22*, 1233–1246, doi:10.1081/DRT-120038589.

48. Wiktor, A.; Iwaniuk, M.; Śledź, M.; Nowacka, M.; Chudoba, T.; Witrowa-Rajchert, D. Drying Kinetics of Apple Tissue Treated by Pulsed Electric Field. *Dry. Technol.* 2013, *31*, 112–119, doi:10.1080/07373937.2012.724128.
49. Taylor, P.; Gachovska, T.K.; Adedeji, A.A.; Ngadi, M.; Raghavan, G.V.S.; Gachovska, T.K.; Adedeji, A.A.; Ngadi, M.; Raghavan, G.V.S. Drying Characteristics of Pulsed Electric Field-Treated Carrot. *Dry. Technol.* 2008, *26*, 1244–1250, doi:10.1080/07373930802307175.
50. Galvão, A.M.M.T.; Rodrigues, S.; Fernandes, F.A.N. Kinetics of ultrasound pretreated apple cubes dried in fluidized bed dryer. *Dry. Technol.* 2019, *38*, 1367–1377, doi:10.1080/07373937.2019.1641511.
51. Nowacka, M.; Wiktor, A.; Śledź, M.; Jurek, N.; Witrowa-Rajchert, D.; Nowacka, M.; Wiktor, A.; Magdalena, S. Drying of ultrasound pretreated apple and its selected physical properties. *J. Food Eng.* **2012**, *113*, 427–433, doi:10.1016/j.jfoodeng.2012.06.013.
52. Abbaspour-Gilandeh, Y.; Kaveh, M.; Fatemi, H.; Aziz, M. Combined Hot Air, Microwave, and Infrared Drying of on Drying Time, Energy, Qualitative, and Bioactive Compounds' Properties. *Foods* **2021**, *10*, 1006.
53. Taghinezhad, E.; Kaveh, M.; Szumny, A. Thermodynamic and Quality Performance Studies for Drying Kiwi in Hybrid Hot Air-Infrared Drying with Ultrasound Pretreatment. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 1297, doi:10.3390/app11031297.
54. Fijalkowska, A.; Nowacka, M.; Wiktor, A.; Sledz, M.; Witrowa-Rajchert, D. Ultrasound as a Pretreatment Method to Improve Drying Kinetics and Sensory Properties of Dried Apple. *J. Food Process Eng.* **2016**, *39*, 256–265, doi:10.1111/jfpe.12217.
55. Witrowa-Rajchert, D.; Lewicki, P.P. Rehydration properties of dried plant tissues. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2006**, *41*, 1040–1046, doi:10.1111/j.1365-2621.2006.01164.x.
56. Kaveh, M.; Abbaspour-Gilandeh, Y.; Taghinezhad, E.; Witrowa-Rajchert, D.; Nowacka, M. The Quality of Infrared Rotary Dried Terebinth (*Pistacia atlantica* L.)-Optimization and Prediction Approach Using Response Surface Methodology. *Molecules* 2021, *26*, 1999, doi:10.3390/molecules26071999.
57. Belmiro, R.H.; Tribst, A.A.L.; Cristianini, M. Impact of high pressure processing in hydration and drying curves of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2018, *47*, 279–285, doi:10.1016/j.ifset.2018.03.013.
58. Jambrak, A.R.; Mason, T.J.; Paniwnyk, L.; Lelas, V. Accelerated drying of button mushrooms, Brussels sprouts and cauliflower by applying power ultrasound and its rehydration properties. *J. Food Eng.* 2007, *81*, 88–97, doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.10.009.
59. Fauster, T.; Giancaterino, M.; Pittia, P.; Jaeger, H. Effect of pulsed electric field pretreatment on shrinkage, rehydration capacity and texture of freeze-dried plant materials. *LWT Food Sci. Technol.* 2020, *121*, 108937, doi:10.1016/j.lwt.2019.108937.
60. Rybak, K.; Parniakov, O.; Samborska, K.; Wiktor, A.; Witrowa-Rajchert, D.; Nowacka, M. Energy and Quality Aspects of Freeze-Drying Preceded by Traditional

- and Novel Pre-Treatment Methods as Exemplified by Red Bell Pepper. *Sustainability* 2021, 13, 2035, doi:10.3390/su13042035.
61. Parniakov, O.; Bals, O.; Lebovka, N.; Vorobiev, E. Pulsed electric field assisted vacuum freeze-drying of apple tissue. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2016, 35, 52–57, doi:10.1016/j.ifset.2016.04.002.
 62. Zubernik, J.; Dadan, M.; Cichowska, J.; Witrowa-Rajchert, D. The Impact of the Pre-Treatment in Ethanol Solution on the Drying Kinetics and Selected Properties of Convective Dried Apples. *Int. J. Food Eng.* 2020, 16, 1–11, doi:10.1515/ijfe-2018-0338.
 63. Zhu, D.; Ji, B.; Eum, H.L.; Zude, M. Evaluation of the non-enzymatic browning in thermally processed apple juice by front-face fluorescence spectroscopy. *Food Chem.* 2009, 113, 272–279, doi:10.1016/j.foodchem.2008.07.009.
 64. Dadan, M.; Nowacka, M.; Wiktor, A.; Sobczynska, A.; Witrowa-Rajchert, D. Ultrasound to improve drying processes and prevent thermolabile nutrients degradation. In *Design and Optimization of Innovative Food Processing Techniques Assisted by Ultrasound*; Barba, F.J., Cravotto, G., Chemat, F., Lorenzo Rodriguez, J.M., Munekata, P.E.S., Eds.; Elsevier Academic Press: London, UK, 2021; pp. 55–110, ISBN 978-0-12-818275-8.
 65. Wibowo, S.; Aba, E.; De Man, S.; Bernaert, N.; Van Droogenbroeck, B.; Grauwet, T.; Van Loey, A.; Hendrickx, M. Comparing the impact of high pressure, pulsed electric field and thermal pasteurization on quality attributes of cloudy apple juice using targeted and untargeted analyses. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2019, 54, 64–77, doi:10.1016/j.ifset.2019.03.004.
 66. Wiktor, A.; Sledz, M.; Nowacka, M.; Rybak, K.; Chudoba, T.; Lojkowski, W.; Witrowa-Rajchert, D. The impact of pulsed electric field treatment on selected bioactive compound content and color of plant tissue. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2015, 30, 69–78, doi:10.1016/j.ifset.2015.04.004.
 67. Janositz, A.; Semrau, J.; Knorr, D. Impact of PEF treatment on quality parameters of white asparagus (*Asparagus officinalis* L.). *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2011, 12, 269–274, doi:10.1016/j.ifset.2011.02.003.
 68. Subhashree, S.N.; Sunoj, S.; Xue, J.; Bora, G.C. Quantification of browning in apples using colour and textural features by image analysis. *Food Qual. Saf.* 2017, 1, 221–226, doi:10.1093/fqsafe/fyx021.
 69. Marszałek, K.; Szczepańska, J.; Starzonek, S.; Woźniak, Ł.; Trych, U.; Skąpska, S.; Rzoska, S.; Saraiva, J.A.; Lorenzo, J.M.; Barba, F.J. Enzyme inactivation and evaluation of physicochemical properties, sugar and phenolic profile changes in cloudy apple juices after high pressure processing, and subsequent refrigerated storage. *J. Food Process Eng.* 2019, 42, 1–8, doi:10.1111/jfpe.13034.
 70. Castro, M.; Moreira, S.A.; Machado, M.F.; Sousa, A.; Saraiva, J.A. Effect of a HPP pretreatment on thermal inactivation kinetics of polyphenoloxidase obtained from three apple cultivars. *J. Food Process Eng.* 2017, 40, e12570, doi:10.1111/jfpe.12570.

71. Denoya, G.I.; Vaudagna, S.R.; Polenta, G. Effect of high pressure processing and vacuum packaging on the preservation of fresh-cut peaches. *LWT Food Sci. Technol.* 2014, *62*, 801–806, doi:10.1016/j.lwt.2014.09.036.
72. Bambace, M.F.; Moreira, M.R.; Sanchez-Moreno, C.; De Ancos, B. Effects of combined application of high-pressure processing and active coatings on phenolic compounds and microbiological and physicochemical quality of apple cubes. *J. Sci. Food Agric.* 2021, *101*, 4256–4265, doi:10.1002/jsfa.11065.
73. Baslar, M.; Ertugay, M.F. The effect of ultrasound and photosonication treatment on polyphenoloxidase (PPO) activity, total phenolic component and colour of apple juice. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2013, *48*, 886–892, doi:10.1111/ijfs.12015.
74. Wiktor, A.; Landfeld, A.; Matys, A.; Novotná, P.; Dadan, M.; Kovářiková, E.; Nowacka, M.; Mulenko, M.; Witrowa-Rajchert, D.; Strohalm, J. and Houška M. Selected Quality Parameters of Air-Dried Apples Pretreated by High Pressure, Ultrasounds and Pulsed Electric Field — A Comparison Study. *Foods* 2021, *10*, 1943. <https://doi.org/10.3390/foods10081943>

Kontaktní adresa: milan.houska@vupp.cz

R6

Ochrana balených potravin před skladištními škůdci pomocí přírodních látek

Protection of packaged foodstuffs against storage pests using natural substances

Radek Aulický¹, Tomáš Vendl¹, Jan Prokop², Václav Stejskal¹

1) Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., tým Ochrana zásob před skladištními
škůdci

2) DeWolf group, s.r.o

Abstrakt

Napadení potravin skladištními škůdci je stále aktuální problém. Škůdci způsobují znehodnocení potravin, pro výrobce potravin navíc představují i problémy ve formě reklamací a tím i ekonomické škody. Jednou z možností, jak snížit riziko napadení balených potravin, je využití repelentních látek. Tradiční syntetické insekticidy jsou spojené s nárůstem rezistence a vznikem nežádoucích chemických reziduí v prostředí či v ošetřených komoditách. Proto byl pro MZe NAZV připraven návrh výzkumného projektu s názvem „Využití biologicky aktivních látek rostlinného původu při skladování zemědělských produktů“, který byl v roce 2020-2021 schválen k řešení. Jedním z výstupů projektu bylo ověření účinnosti esenciálního oleje použitého na terciálním obalu. Bylo zjištěno, že olej odpuzuje škůdce od skladovaných potravin, i pokud je použit na dřevěnou transportní paletu, a nepřichází tak do kontaktu s potravinou. Dalším výstupem pak byl vývoj a otestování potravinářského lepidla určeného k lepení obalů s inkorporovaným rostlinným olejem. V tomto případě se však ukázalo, že lepidlo mělo pro škůdce spíše atraktivní účinky. Navzdory tomu je možné v blízké budoucnosti očekávat vývoj nových formulací rostlinných insekticidů a repelentů.

Abstract

Infestation of foodstuff by storage pests is still an actual problem. Pests cause food deterioration, and for food producers they also represent problems in the form of complaints and thus economic damage. One way how to reduce the risk of packaged food infestation is using of repellents. Traditional synthetic insecticides are associated with an increase of pest resistance and the formation of undesirable chemical residues in the environment or in treated commodities. Therefore, a research project entitled “Application of biologically active natural compounds in storage of agricultural products” was prepared for the Ministry of Agriculture of the NAZV, which was approved for years 2020-2021. One of the goals of the project was to verify the efficacy of the essential oil used on a tertiary packaging. It was found that the oil repels pests from stored food, even when used on a wooden transport pallet, and thus does not come into contact with the

food. Another output of the project was the development and testing of a glue with incorporated vegetable oil. In this case, however, it turned out that the glue had rather attractive effects for pests. Nevertheless, the development of new formulations of plant insecticides and repellents can be expected in the near future.

Keywords: *active packaging, repellence, essential oils, edible oils, stored product protection*

Úvod

Vzhledem k vývoji nových metod ošetření, moderních typů obalů a nadbytku potravin by se běžnému spotřebiteli mohlo zdát, že napadení potravin škodlivými organismy nepředstavuje v současné době vážný problém. Farmáři, skladníci či výrobci potravin ale vědí, jakou námahu dá ochránit potraviny před nevíтанými škůdci. Že je přítomnost škůdců v potravinách stále aktuální problém, dokazují recentní studie, podle nichž jsou členovci a části jejich těl nejčastějším kontaminantem mouky, a stávají se tak součástí běžného pečiva (Trematerra a kol., 2011). Za účelem ochrany potravin je vyvíjena řada různých nástrojů a metod; od mechanických, fyzikálních až po chemické nebo biologické. Chemická ochrana a syntetické insekticidy byly a jsou nedílnou součástí integrované ochrany ve skladech. Vzhledem k možné kontaminaci potravin a nepříznivému vlivu na zdraví lidí a životní prostředí (a rovněž v současnosti vznikající rezistenci mnoha druhů škůdců) však není možné syntetické insekticidy používat k přímé ochraně skladovaných potravin. Z toho vyplývá nezastupitelný význam obalů. Potravina může být napadena (infestována) kdykoliv během výrobního procesu a následného uskladnění v továrně, ale i během jejího transportu a následného uskladnění v obchodě či u konečného spotřebitele. Z pohledu výrobce je důležité, že po opuštění výrobní haly/skladu již výrobce nemá vliv na osud potraviny a obal tak představuje poslední bariéru chránící potravinu před škůdci. Při vývoji a výběru obalu pro určitou potravinu je třeba si uvědomit, že význam obalu nespočívá jen v ochraně před vnějšími vlivy (jako jsou různé nežádoucí makro- a mikroorganismy a mechanické poškození), ale i v udržení integrity potraviny a v neposlední řadě i v určité estetické a informační hodnotě (obal musí potenciálního spotřebitele zaujmout a musí nést informace v podobě etikety). Obal musí všechny tyto funkce splňovat nejméně po dobu expirace výrobku, což může být velice dlouho, často několik měsíců i let.

Hlavní rizika vyplívající z přítomnosti škůdců jsou vcelku nasnadě. Vedle zdraví škodlivých látek (toxiny, karcinogeny, alergenů) škůdci svým žírem a metabolickou aktivitou vytvářejí podmínky pro růst nežádoucích mikroorganismů, jako jsou například plísně (Hubert a kol., 2018). Přítomnost škůdců představuje i ekonomická rizika, neboť znehodnocují potraviny, které se pak často stávají předmětem reklamací. Vzhledem k tomu, že napadení potraviny škůdcem často zjistí až koncový spotřebitel, počítají se ekonomické ztráty přes celou širší spotřebitelského procesu od výroby po transport a uskladnění. Protože jsou obaly často neprůhledné, působení škůdce může trvat relativně

dlouhou dobu a poškození potravin tak bývá extenzivní. To může následně vést k zanevření spotřebitele na daný výrobek.

Spolehlivý obal chránící potraviny před napadením škůdci je tedy klíčový prvek ochrany potravin. V současnosti je využívána řada materiálů s různými vlastnostmi a odolností proti škůdcům. Mezi nejužívanější materiály patří syntetické polymery (polypropylen, polyetylen, polyester), papír, karton, hliník či textil. Ke zvýšení ochranné funkce je možné jednotlivé materiály kombinovat a vytvořit tak vícevrstevný obal. Jak již bylo řečeno, obalové materiály se liší svou odolností proti infestaci škůdci. Nejnáchylnější materiály jako například papír či polypropylen mohou být škůdci prokousány (penetrovány), ale škůdci mohou do obalu vniknout již existujícími otvory (například kompresními otvory nebo otvory již prokousanými jiným škůdci). V tomto směru jsou paradoxně náchylnější vícevrstevné obaly, neboť mezi jednotlivými vrstvami vznikají netěsnosti a mikrotrhlíky, které dávají příležitost vniknutí drobným druhům škůdců (například pisivky či lesáci) (Stejskal a kol., 2017). Výběr obalového materiálu se provádí i v závislosti na tom, zda se jedná o obal primární, sekundární, nebo terciální.

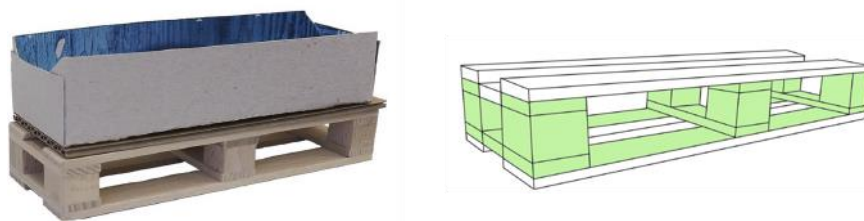
Z důvodu zvýšení resistance obalů proti skladištním škůdcům v minulosti proběhly pokusy s ošetřením obalu syntetickými insekticidy či repelenty. Vzhledem k jejich negativním vlastnostem (viz výše), ale tyto látky nemohou přicházet do kontaktu s potravinou a jejich využití je tak v tomto směru nemožné. Jako alternativa se tak nabízejí látky přírodního původu, jako jsou například esenciální oleje (EO), které nemají negativní vlastnosti jako syntetické látky a mohou tedy přijít do kontaktu s potravinou – většinou jsou klasifikovány jako potravinářské látky (podle rozhodnutí 2002/113/EC Evropské komise jako ochucovadla). Jedná se o sekundární metabolity rostlin, produkované různými částmi rostliny (listy, květy, plody, kořeny...). Jsou to sloučeniny několika až desítek sekundárních rostlinných metabolitů, mezi nimiž převažují lipofilní terpenoidy. Ty jsou těkavé, aromatické, a jednotlivé složky oleje působí často synergicky. O jejich insekticidních, repelentních a antimikrobiálních účincích se vědělo již ve starověku, po druhé světové válce ale jejich roli přebraly levnější syntetické insekticidy a repelenty. V současné době však dochází k jejich renesanci. Užívají se zejména jako repelenty proti ektoparazitům člověka (klíšťata, bodavý hmyz) či v ochraně plodin na polích před fytofágním hmyzem. Jejich použití k ochraně posklizňových zásob a potravin se tak jeví jako potenciálně perspektivní. Obaly mohou být EO ošetřeny nátěrem (coating), inkorporací oleje do barvy, laku či spojovacího materiálu obalu, nebo inkorporací do samotné hmoty obalu (Navarro a kol., 2007). Esenciální oleje však mají některé vlastnosti, které jejich použití pro dlouhodobou ochranu zásob poněkud komplikují. Je to zejména jejich nestálost, daná nízkou persisterancí účinkem světla a tepla (Turek a Stintzing, 2013). Účinnost EO se tak počítá na hodiny či dny, řádově se dá však zvýšit například enkapsulací (Oliveira a kol., 2014). Další nepříjemná vlastnost esenciálních olejů spočívá v jejich variabilním působení v závislosti na koncentraci, která se mění s časem. Účinek se rovněž u jednoho typu EO může lišit na různé druhy škůdce. Asi poslední větší nesnáze spojená s použitím esenciálních olejů je jejich aromatická, a mohou tak teoreticky ovlivňovat organoleptické vlastnosti potravin.

Proto jsme v rámci projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum studovali možné použití biologicky aktivních látek rostlinného původu k ochraně při skladování potravin a zemědělských produktů. Některé z výsledků projektu budou prezentovány v tomto příspěvku.

Metodika

1. Testování účinnosti EO na terciálním obalu

Cílem pokusu bylo ověřit možnost ošetření jednotlivých komponent terciálního obalu (tj. dřevěné palety, kartonové proložky a papírové krabice). Tím by EO nepřišel do kontaktu přímo s primárním obalem/potravinou. Základem pokusu byla maketa palety s proložkou a kartonovou krabicí, simulující balení potravin připravených k distribuci (Obrázek 1). Paletka měla rozměry 15 x 5 cm, krabička byla vyrobena z kartonového obalu rýže. Testováno bylo ošetření i) paletky, ii) proložky, iii) krabičky bergamotovým olejem. Roztok oleje a acetonu (5%) byl rovnoměrně nanášen pipetou v množství 0,25 µl/cm² na každý materiál. Jako kontrola sloužilo ošetření samotným acetonem. Pokus byl zahájen ve třech časových intervalech: i) 1 hodinu po aplikaci roztoku, ii) 24 hodin po aplikaci roztoku a iii) 7 dní po aplikaci roztoku. Maketa palety s jednou ošetřenou částí byla uložena spolu s kontrolou do Lock&Lock boxu (pokus tedy probíhal jako two-choice test), kam bylo následně introdukováno 50 ks potměníka skladištního (*T. confusum*) nebo pilouse černého (*S. granarius*). Každá krabička obsahovala 150 g atraktantu (zrna pšenice u pilouse a rýže u potměníka). Boxy byly uloženy v 24 °C. Za jednu hodinu byl box otevřen a spočítáni brouci uvnitř každé krabičky. Protože brouci mají tendenci ukrývat se v buňkách kartonové proložky, z ní mohou následně migrovat do potravin, byli počítáni i brouci v proložce. Počet opakování na druh škůdce/místo ošetření/čas byl 10.



Obrázek 1: Model použitého obalu a vyznačená místa ošetření EO (zeleně).

2. Testování repelence potravinářského s inkorporovaným EO

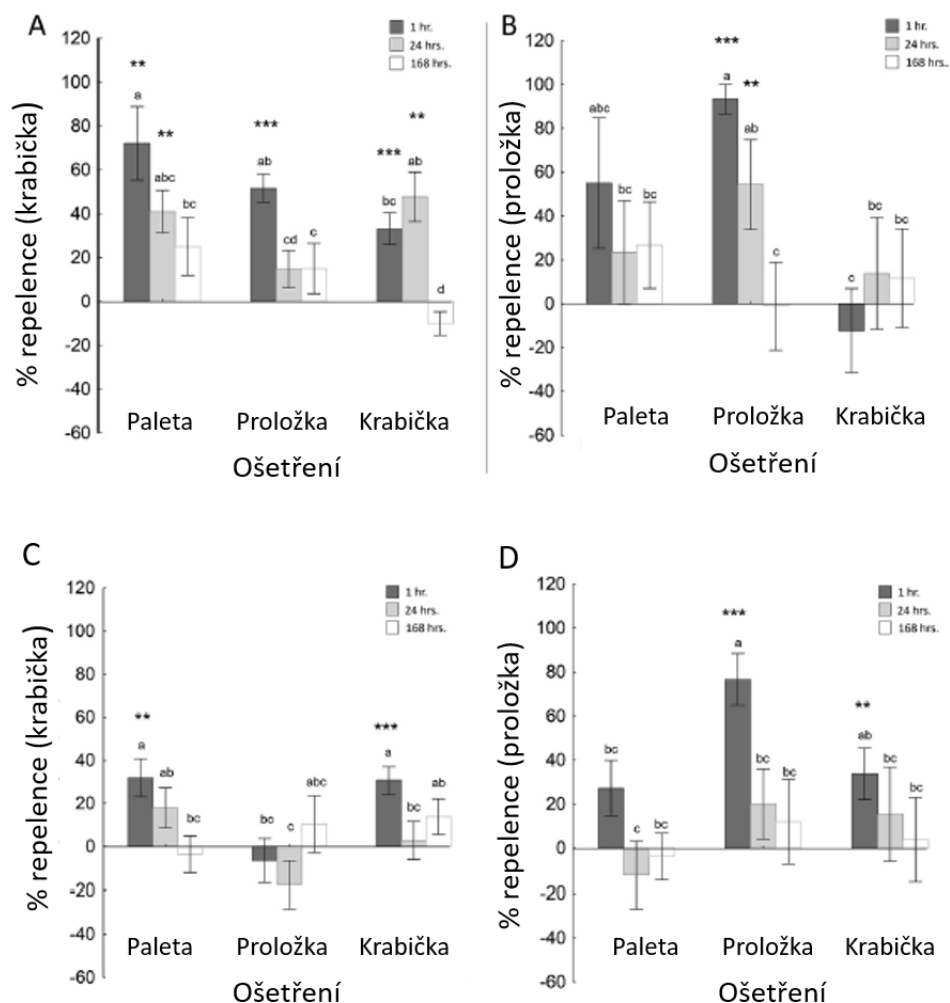
Primární, případně sekundární obaly potravin jsou běžně lepeny pomocí lepidla (zejména papírové či kartonové krabice). Testovali jsme tedy možnost přidání rostlinného do lepidla na lepení papírových krabic od rýže (Podravka) a vytvoření lepidla s repelentními účinky. Protože je bergamotový olej aromatický (viz výše) a mohl by tak ovlivnit organoleptické vlastnosti rýže, testován byl nearomatický rostlinný mandlový olej (MO). Cílem tohoto testu bylo ověřit účinnost lepidla při jeho aplikaci na papírovou krabici rýže.

Pro tento účel byla použita krabice pro balení rýže od firmy Podravka a lepidlo, jímž se krabice standardně lepí. Krabice byly lepeny na místech, která jsou k lepení určena – tedy na spodní a vrchní straně. Bylo použito lepidlo s mandlovým olejem v koncentraci 10 %. Lepidlo bylo rozehráno v keramické kádince na teplotu 140 °C a do rozehrátého lepidla byl rozpuštěn MO. Jako atraktant bylo do krabice vloženo 200 gramů rýže. Vzhledem k tomu, že primární škůdci dokáží obal penetrovat na kterémkoliv místě a pro infestaci potravin tedy nemusí přijít s lepidlem do kontaktu, byli testováni jen sekundární škůdci, konkrétně potěmník skladištní (*T. confusum*) a lesák skladištní (*Oryzaephilus surinamensis*). Pokus probíhal formou two-choice testu, do jednoho Lock&Lock boxu byla umístěna krabice slepená repelentním lepidlem společně s krabicí slepenou lepidlem bez oleje. Do boxu bylo introdukováno 30 jedinců daného druhu sekundárního škůdce a za 48 hodin byli spočítáni brouci v obou krabicích rýže. Počet opakování byl 10.

Výsledky

1. Testování účinnosti EO na terciálním obalu

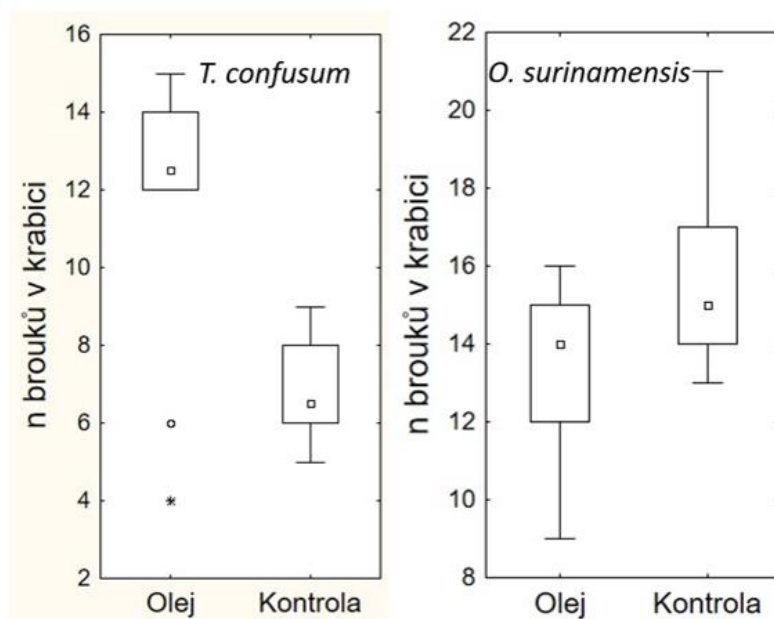
Výsledky naznačují, že ošetření bergamotovým olejem má potenciál snížit napadení balených komodit na paletách skladištními škůdci (Obrázek 2). Obecně největší repelentní efekt na počet brouků v krabici mělo ošetření dřevěné palety (72% a 32% repelence jednu hodinu po ošetření u pilouse černého a potěmníka skladištního), ale efekt mělo ošetření i dalších komponent obalu. Na druhou stranu ošetření palety nemělo vliv na počet brouků ukrývajících se v buňkách kartonové proložky. Toho bylo docíleno ošetřením samotné proložky: jednu hodinu po ošetření vykazovala proložka 94% a 77% repelenci proti pilousi černému a potěmníku skladištnímu. Ochranný efekt bergamotového oleje však s časem klesal a po týdnu od ošetření již zcela vymizel.



Obrázek 2: Repelentní účinky bergamotové oleje aplikované na různé komponenty terciálního obalu. A-B: pilous černý, C-D: potemník skladištní. A, C: účinky na počet brouků v papírové krabíčce, B, D: účinky na počet brouků v kartonové proložce.

2. Testování repelence potravinářského s inkorporovaným EO

Oproti předpokladům se ukázalo, že lepidlo mělo na potemníka skladištního (*T. confusum*) atraktivní účinky, když v krabících ošetřených lepidlem s MO bylo v průměru více brouků než v kontrolních krabících (t-test: 3,7; $p = 0,0015$). Naopak v případě lesáka skladištního krabice slepené lepidlem s MO investovalo méně brouků než kontrolní krabice, ale tento rozdíl byl na hranici významnosti (t-test: 2,1; $p = 0,0501$) (Obrázek 3).



Obrázek 3: Počet jedinců potměníka skladištního a lesáka skladištního, kteří infestovali krabice rýže slepené lepidlem s inkorporovaným MO v porovnání s krabicemi slepenými samotným lepidlem.

Závěry a diskuze

V současné době se stále více omezuje používání syntetických insekticidních nebo repelentních přípravků v ochraně potravinářských provozů a jejich produktů. Důvodem jsou jejich nepříznivé účinky na lidské zdraví a necílové druhy, kontaminace přírodního prostředí a získaná resistance celé řady škůdců. Rostlinné oleje se v poslední době ukázaly jako vhodná náhrada syntetických látek. Pro jejich úspěšné použití v ochraně skladovaných produktů bude ale nutné překonat určité nesnáze. Na některé z nich narazila i naše práce. Je to zejména omezená persistence rostlinných olejů a dále variabilita jejich účinku v závislosti na druhu škůdce a koncentraci. Ukazuje se, že v rámci jednoho druhu oleje a škůdce může mít v průběhu času rostlinný olej jak insekticidní, repelentní, i atraktivní účinky. Navzdory tomu je potenciál použití těchto látek stále vysoký. Vzhledem ke stále se zvyšující společenské poptávce po „zelených“ alternativách syntetických přípravků tak můžeme v blízké budoucnosti očekávat vývoj nových formulací rostlinných insekticidů a repelentů.

Literatura

- Hubert, J., Stejskal, V., Athanassiou, C. G., & Throne, J. E. (2018). Health hazards associated with arthropod infestation of stored products. *Annual review of entomology*, 63, 553-573.
- Navarro, S., Zehavi, D., Angel, S., & Finkelman, S. (2007). Natural nontoxic insect repellent packaging materials. *Intelligent and active packaging for fruits and vegetables*, 201-236.

de Oliveira, J. L., Campos, E. V. R., Bakshi, M., Abhilash, P. C., & Fraceto, L. F. (2014). Application of nanotechnology for the encapsulation of botanical insecticides for sustainable agriculture: prospects and promises. *Biotechnology advances*, 32(8), 1550-1561.

Stejskal, V., Bostlova, M., Nesvorna, M., Volek, V., Dolezal, V., & Hubert, J. (2017). Comparison of the resistance of mono-and multilayer packaging films to stored-product insects in a laboratory test. *Food Control*, 73, 566-573.

Trematerra, P., Stejskal, V., & Hubert, J. (2011). The monitoring of semolina contamination by insect fragments using the light filth method in an Italian mill. *Food Control*, 22, 1021-1026.

Turek, C., & Stintzing, F. C. (2013). Stability of essential oils: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 12(1), 40-53.

Kontaktní adresa:

Radek Aulický

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Drnovská 507/73

161 06, Praha 6 - Ruzyně

Regulace reklamy na potraviny – historie a trendy***Regulation of food advertising - history and trends*****Jiří Hadaš**

Rada pro rozhlasové a televizní vysílání

Reklama, co do obsahu a formy, je tak i předmětem normativních úprav, které stanoví pravidla pro její šíření, obsahovou přípustnost a povinné náležitosti. Tak je tomu i v oblasti reklamy na potraviny. Jakkoli se může zdát, že jde o sektor poměrně úzký a neproblematický, opak je pravdou. Tato kategorie má bohatou a dlouhou historii, která podléhala svébytné právní úpravě a rovněž i svébytné existenci.

Advertising, in terms of content and form, is thus subject to normative adjustments, which set out the rules for its dissemination, content admissibility and mandatory requirements. This is also the case in food advertising. Although the sector may seem relatively narrow and unproblematic, the opposite is true. This category has a rich and long history, which was subject to a separate legal regulation as well as a separate existence.

Reklama je jednou z forem sociální interakce, která prostřednictvím masových médií zasahuje každého jedince, a která provází lidstvo od samých počátků existence obchodu. Podstatou a teorií reklamy spojenou s dovednostmi získávání spotřebitele se zabývá obrovské množství studií. Je zkoumána nejen z pohledu marketingu, ale rovněž prizmatem sociologie, mediálních studií, antropologie, psychologie a také práva.

Již od nepaměti existuje snaha upoutat pozornost zákazníků za účelem propagace svých výrobků a mezi nimi i potravinami. Nikdo se doposud nezabýval historií reklamy na potraviny, ale není vyloučeno, že už v pravěkých dobách lovci mamutů se snažili upoutat pozornost na své úlovky a vymalovávat si svá obydlí v jeskyni loveckými trofejemi. Pravdou je, že propagovali své úspěchy coby lovců, protože konkurence v produktu příliš nebyla. Mamut, bizon, mamut, bizon.

S tím, jak kráčela historie a měnila se hospodářská situace spojená s přebytky, byla potřeba v konkurenčním boji obstát s dalšími producenty potravin a vznikaly propracovanější a rafinovanější reklamy.

Od prvotních sdělení inzercí s jednoduchými sděleními Josef Ječmen Obchod žitem a jiným obilím, se objevovaly stále sofistikovanější inzerce. S bohatým doprovodným grafickým dekorem.



S tím, jak rostla podnikavost obchodníků vznikaly nové a novější a ještě novější potraviny, které kromě primárního účelu potravin zasytit nabízeli zázraky. Reklamy hlásaly a doporučovaly zázračný pudink, po kterém neznámá osm kilo přibrala na těch správných partiích, jindy zázračný výtažek z bylin, který zbaví nemoci nejtajnějších a prospěje pudu pohlavnímu jak u mužů posílením a povzbuzením, tak ženám v obdobích měsíčních. Zkrátka zázrak nad zázrak.

Kupující ve své důvěřivosti podléhali klamům a nakupovali. Situace byla nakonec taková, že sice pomalu, ale přesto, docházelo k ochraně kupujících před klamáním prodávajících.

Reklama, co do obsahu a formy, je tak i předmětem normativních úprav, které stanoví pravidla pro její šíření, obsahovou přípustnost a povinné náležitosti.



Tak je tomu i v oblasti reklamy na potraviny. Jakkoli se může zdát, že jde o sektor poměrně úzký a neproblematický, protože nabídka potravin se obvykle omezuje pouze na slevové akce v supermarketech, opak je pravdou.

Často se totiž zapomíná, že do kategorie potravin spadají i všechny produkty označované jako doplňky stravy. Nabídka tohoto sortimentu je skutečně široká a reklama na ni patří k nejrozšířenějším. A jak bude patrné v následujících kapitolách, ze strany dozorových orgánů k sankčně nejpostihovanějším.

Orientace v příslušné judikatuře a správních rozhodnutích je značně složitá a nepřehledná, zejména pak v důsledku toho, že reklama na potraviny není upravena jen jedním právním předpisem, ale celou řadou zákonných a podzákonných norem a současně také předpisy EU. Dalším faktorem pak je skutečnost, že nad reklamou, dle způsobu jejího šíření, dohlíží několik různých dozorových orgánů.

Představme si na výčet právních předpisů, které jsou relevantní pro oblast regulace reklamy na potraviny a následně stručný obsah těchto norem. Bližší rozbor právních předpisů bude předmětem následujících kapitol, kde budou obsaženy i příklady z praxe spolu s odkazy na relevantní judikaturu.

Oblastí regulace reklamy se zabírají nejen tuzemské právní předpisy, ale důležité jsou i unijní předpisy, které tvoří základní jednotící rámec pro členské země EU. Přesto však existují diference, které na principiálně jednotném trhu EU mohou utvářet rozdíly v aplikaci práva v jednotlivých zemích.

Pro oblast regulace reklamy na potraviny jsou podstatné následující právní předpisy:

- Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů
- Zákon č. 634/1992 Sb., o ochraně spotřebitele
- Zákon č. 40/1995 Sb., o regulaci reklamy a o změně a doplnění zákona č. 468/1991 Sb., o provozování rozhlasového a televizního vysílání, ve znění pozdějších předpisů
- Zákon č. 231/2001 Sb., o provozování rozhlasového a televizního vysílání
- Zákon č. 452/2001 Sb., o ochraně označení původu a zeměpisných označení a o změně zákona o ochraně spotřebitele
- Zákon č. 146/2002 Sb., o Státní zemědělské a potravinářské inspekci a o změně některých souvisejících zákonů
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví postupy týkající se bezpečnosti potravin
- Směrnice Evropského Parlamentu a Rady 2010/13/EU ze dne 10. března 2010 o koordinaci některých právních a správních předpisů členských států upravujících poskytování audiovizuálních mediálních služeb (směrnice o audiovizuálních mediálních službách)
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 o výživových a zdravotních tvrzeních při označování potravin
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům

Základním předpisem je zákon o regulaci reklamy. Zákon zpracovává příslušné předpisy Evropské unie upravující regulaci reklamy, která je nekalou obchodní praktikou, reklamy srovnávací, reklamy na tabákové výrobky, na humánní léčivé přípravky, na veterinární léčivé přípravky, na potraviny a na počáteční a pokračovací kojeneckou výživu, a upravuje obecné požadavky na reklamu a její šíření včetně postihů za porušení povinností podle tohoto zákona a stanovuje orgány dozoru.

V případě reklamy na potraviny je pak pravomoc rozdělena mezi tři orgány – Radu pro rozhlasové a televizní vysílání, Státní zemědělskou a potravinářskou inspekci a dále Krajské úřady.

Dalším důležitým předpisem je zákon o ochraně spotřebitele zpracovává příslušné předpisy Evropské unie, zároveň navazuje na přímo použitelné předpisy Evropské unie a upravuje některé podmínky podnikání významné pro ochranu spotřebitele, úkoly veřejné správy v oblasti ochrany spotřebitele a oprávnění spotřebitelů, sdružení spotřebitelů nebo jiných právnických osob založených k ochraně spotřebitele, jakož i mimosoudní řešení spotřebitelských sporů.

Mezi hlavní oblasti této právní úpravy patří poctivost prodeje, zákaz používání nekalých obchodních praktik, informační povinnosti a označování, organizované akce a mimosoudní řešení spotřebitelských sporů.

Nekalé obchodní praktiky jsou upraveny v § 4 tohoto zákona:

(1) Obchodní praktika je nekalá, je-li v rozporu s požadavky odborné péče a podstatně narušuje nebo je způsobilá podstatně narušit ekonomické chování spotřebitele, kterému je určena, nebo který je jejímu působení vystaven, ve vztahu k výrobku nebo službě. Je-li obchodní praktika zaměřena na určitou skupinu spotřebitelů, posuzuje se podle průměrného člena této skupiny.

(2) Obchodní praktika, která může podstatně narušit ekonomické chování určité jednoznačně vymežitelné skupiny spotřebitelů, kteří jsou z důvodu duševní nebo fyzické slabosti, věku nebo důvěřivosti zvláště zranitelní takovou praktikou nebo výrobkem nebo službou, a to způsobem, který prodávající může rozumně očekávat, se hodnotí z hlediska průměrného člena této skupiny; tím nejsou dotčeny běžné a oprávněné reklamní praktiky zveličených prohlášení nebo prohlášení, která nejsou míněna doslovně.

Další z možných ochrann spotřebitele vyplývá z konkurenčního jednání mezi podnikatelskými subjekty vede k využívání postupů, které mohou vést ke střetu v hospodářské soutěži. Na rozdíl od veřejnoprávní ochrany hospodářské soutěže je v případě soukromoprávní ochrany dána možnost postiženého subjektu (soutěžitele) obrátit se žalobou na soud, který v civilním řízení rozhodne o přiznání konkrétního právního prostředku ochrany, dle žalobního návrhu.

Ve sporech ve věci nekalé soutěže rozlišujeme osoby, které jsou aktivně a pasivně legitimovány. Aktivní legitimace, resp. aktivně legitimovaný subjekt ve sporech z nekalé soutěže je definován v § 2988 občanského zákona – jedná se o osobu, jejíž právo bylo nekalou soutěží ohroženo nebo porušeno.

Jakožto subjekt pasivně legitimovaný ve sporech nekalé soutěže je označován rušitel. Tedy subjekt, který se měl dopustit nekalosoutěžních jednání. Soud vydá rozhodnutí o následujících nárocích aktivně legitimovaného subjektu:

- **Zdržení se nekalosoutěžního jednání**

Jedná se o nejčastěji uplatňovaný návrh ve sporech nekalé soutěže. Žalobce se při něm domáhá, aby se žalovaná strana zdržela určitého jednání

- **Odstranění závadného stavu**

Takzvaný odstraňovací návrh bývá taktéž označován jako nárok restituční. Spočívá v odstranění zdroje negativních účinků nekalosoutěžního jednání, tento nárok směřuje do minulosti.

- **Přiměřené zadostiučinění**

Jakožto funkci přiměřeného zadostiučinění můžeme považovat satisfakci.

- **Náhrada škody**

Dle současné úpravy občanského zákoníku se dává přednost naturální restituci, v případě, že není možné navrácení do předešlého stavu, pak se volí peněžní náhrada, ta se užije také, pokud si to poškozený přímo žádá.

- **Vydání bezdůvodného obohacení**

Vydání bezdůvodného obohacení je v občanském zákoníku upraveno v §2991, u nekalé soutěže pak je třeba, aby byla naplněna dílčí skutková podstata bezdůvodného obohacení – protiprávní užití cizí hodnoty.

Existuje tedy celá řada předpisů, která nějakým způsobem chrání spotřebitele před tím, aby nebyl klamán a podváděn, ale i přesto je v některých případech fantazie prodejců zázračných potravin bezmezná.

I dnes je podnikavost obchodníků stejná jako dříve a spotřebitelům jsou nabízeny nové a novější a ještě novější potraviny, které slibují zázraky. Reklamy hlásají a doporučují zázračný puding, po kterém každý ne osm kilo přibere, ale dvacet zhubne na těch správných partiích.

I dnes je možno zakoupit zázračný výtažek z bylin, který zbaví nemocí všech a prospěje pudu pohlavnímu u mužů posílením a povzbuzením.

Jak je patrné historie se stále opakuje, a i nejdůmyslnější právní normy nemohou zabránit klamáním spotřebitelů.

Jiří Hadaš

Hadas.j@rrtv.cz

Funkční vlastnosti obalů***Functional properties of packaging*****Vápenka Lukáš**

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

Každý obal a tedy i obal potravinářského výrobku má plnit tři základní funkce. V prvé řadě má chránit výrobek před znehodnocením. Způsob balení je jedním z prostředků prodloužení údržnosti potravin, a to nejen při skladování, ale i při vlastní výrobě a distribuci. Velmi často je obal nezbytnou funkční součástí potravinářského výrobku. Platí to například o sterilovaných potravinách, výrobcích uchovávaných za sníženého tlaku nebo balených v modifikované atmosféře. Ochrannou funkci z uvedeného pohledu rozumíme eliminaci popř. omezení nepříznivých vnějších vlivů, a to jak chemických, tak fyzikálních i biologických. V minulosti byly klasické obalové materiály jako dřevo, textilie, papír, sklo a kov stále více nahrazovány polymerními materiály. Polymerní materiály jsou spolu s potravinami vystaveny technologickému zpracování, jako jsou termosterilizace, konzervace zářením, konzervace vysokým hydrostatickým tlakem apod. Proto pro výběr vhodného obalového materiálu je důležité znát jeho funkční vlastnosti a změny, kterým může materiál podléhat například během technologického zpracování. Aktuálně probíhá i náhrada již tradičních polymerních materiálů a jejich kombinací novými typy, například biodegradovatelnými polymery, obalovými materiály na bázi jednoho typu polymeru, materiály s tenkovrstvými bariérami nahrazujícími vrstvu hliníku atd. U těchto materiálů je potřeba mít dostatečné znalosti v oblasti funkčních vlastností pro jejich úspěšnou aplikaci při náhradě tradičních materiálů.

Each package and thus the packaging of a food product should meet three basic functions. First and foremost, it is intended to protect the product from deterioration. The method of packaging is one of the means of extending the shelf life of food, not only during storage, but also during its own production and distribution. Very often, packaging is an essential functional part of a food product. This is the case, for example, with sterilized foodstuffs, products stored under reduced pressure or packaged in a modified atmosphere. From the above point of view, the protective function means the elimination or reduction of adverse external influences, both chemical and physical and biological. In the past, classic packaging materials such as wood, textiles, paper, glass and metal were increasingly replaced by polymeric materials. Polymeric materials are exposed to technological processing together with food, such as thermal sterilization, radiation conservation, high hydrostatic pressure conservation, etc. Therefore, to select a suitable packaging material, it is important to know its functional properties and changes to which the material may be subjected during technological processing. At present, the already traditional polymeric materials and their combinations are replaced by new types, for example based

on biodegradable materials, packaging materials based on one type polymer, materials with thin barrier layers replacing aluminium layer, etc. Sufficient knowledge and ensuring functional properties is essential for their successful application in the replacement of traditional materials.

Klíčová slova: *food packaging, functional properties*

Úvod

Každý obal a tedy i obal potravinářského výrobku má plnit tři základní funkce. V první řadě má chránit výrobek před znehodnocením. Způsob balení je jedním z prostředků prodloužení účtrnosti potravin, a to nejen při skladování, ale i při vlastní výrobě a distribuci. Velmi často je obal nezbytnou funkční součástí potravinářského výrobku. Platí to například o sterilovaných potravinách, výrobcích uchovávaných za zvýšeného tlaku nebo balených v modifikované atmosféře. Ochrannou funkcí z uvedeného pohledu rozumíme eliminaci popř. omezení nepříznivých vnějších vlivů, a to jak chemických, tak fyzikálních i biologických. Vlastní funkce obalu může být pasivní i aktivní. V prvním případě je obal pouhou bariérou vloženou mezi balený produkt a vnější prostředí, v druhém případě je systém balení založen na schopnosti samovolné změny vlastností obalu v reakci na měnící se podmínky okolí [1].

Druhým stěžejním úkolem obalu je vytvoření racionální manipulační jednotky přizpůsobené tvarem, hmotností i konstrukcí požadavkům přepravy, obchodu i spotřebitele. Každý obal má tedy funkci manipulační, a to od nejmenších jednororcových balení až po přepravní kontejnery [1].

Třetí základní funkcí každého obalu je komunikační role. Obal je přirozeně prostředkem vizuální komunikace mezi jednotlivými partnery ve sféře oběhu zboží, zejména pak mezi výrobcem a zákazníkem [1].

Uvedené tři funkce nebývají zpravidla u různých obalů stejně významné. Především je rozdíl mezi skupinou obalů přepravních, u kterých je logicky kladen důraz na funkci manipulační a ochrannou, a obaly spotřebitelskými, kde zpravidla vystupuje do popředí i funkce komunikační. Někdy se uvádí i další funkce obalu, např. funkce logistická či marketingová a další. Ty však lze odvodit na základě kombinace výše uvedených funkcí základních.

Funkční vlastnosti obalů

Základem konstrukce systému balení je tedy vždy soubor úmyslných a cílených interakcí. Jejich cílem je udržet co nejdéle kvalitu baleného produktu pokud možno co nejbližce čerstvému stavu. Optimální rozsah vzájemného působení obalu, balené potraviny a okolí je zajištěn volbou funkčních parametrů obalu, které zajistí správnou funkci systému balení. Funkční parametry bezprostředně spjaté s ochrannou funkcí systému balení jsou zejména mechanické vlastnosti obalu (pevnost v tlaku, tahu, v protržení, ve spoji, koeficient tření atd.), jeho bariérové charakteristiky (propustnost pro plyny, vodní páru, aromatické páry, záření, hermetičnost obalu atd.) a tepelné parametry (tepelná odolnost, podmínky svařovatelnosti u polymerních materiálů apod.). Důležité jsou pochopitelně i další funkční parametry, které již tak úzce nesouvisí s ochrannou funkcí, nicméně jsou důležité pro další role balení, jako je funkce informační či manipulační, resp. jejich kombinace někdy zmiňované jako funkce marketingová či logistická.

Ty zahrnují například optické parametry (průzračnost, čírost, lesk atd.), kvalitu potisku (čitelnost čárového kódu, odolnost barev proti oděru) a další. Kromě uvedených parametrů musí obalové prostředky určené pro kontakt s potravinami splňovat i požadavky zdravotní.

Z uvedeného je tedy zřejmé, že volba funkčních parametrů systému balení má klíčový význam pro jeho účinnost. Vzhledem k tomu, že veškeré informace o podmínkách ve výrobě potravin, tj. parametrech strojního vybavení, vlastnostech baleného produktu i optimálních podmínkách skladování a distribuce, má výrobce potravin a musí to být on, kdo funkční parametry systému balení zná a požaduje jejich dodržení po dodavateli tím, že je specifikuje v kupní smlouvě uzavírané s dodavateli obalových prostředků. Tento postup by měl zajistit správnou funkčnost systému balení, možnost kontroly kvality odebíraných obalových prostředků a v případě problémů kontrolu, zda nejsou příčinou obalové materiály vykazující nevhodné vlastnosti. Tento systém se zdá na první pohled jako logický, ale současný stav velmi často spočívá v tom, že výrobce potravin přenechá volbu obalových prostředků na zkušenosti jejich dodavatelů, aniž by podrobněji specifikoval své požadavky. Tento postup je problematický, minimálně ze dvou důvodů. Prvým je skutečnost, že je pak často obtížné kontrolovat kvalitu dodávaných obalových prostředků, jejichž funkční charakteristiky výrobce potravin často nezná. Druhým důvodem je i obtížná situace při arbitrážním jednání po vzniku větší hmotné škody způsobené zkázou většího objemu produkce v důsledku nesprávné funkce obalu, kdy je pozice výrobce nezáviděníhodná, neboť může jen velmi obtížně prokázat, že mu byly dodány nevhodné obalové prostředky, když sám nedokáže definovat jejich důležité funkční parametry [2].

Je tedy zřejmé, že každý výrobce balených potravin by měl mít co nejpodrobnější znalost o funkčních parametrech obalů, které používá. Tato znalost je i podmínkou pro úspěšné absolvování auditů při ověřování účinnosti systémů managementu jakosti (např. dle řady norem ISO 9000-4), systémů HACCP či shody s postupy dle norem Global Safety Food Initiative – GSFI (standardy BRC, ISF, TFMS) atd. Tyto normy většinou požadují, aby výrobce potravin prokázal nejen úplnou kontrolu nad zdravotní nezávadností používaných obalových prostředků, ale i vhodnost obalového materiálu, resp. systému balení, pro příslušný výrobek. Prvý z uvedených požadavků se plní v rámci povinností formulovaných legislativou EU a ČR na předměty určené pro přímý kontakt

s potravinami. Ověřování druhého sahá nad rámec legislativy EU, kdy funkčnost obalu lze prokázat buď přímo funkčními parametry systému balení, nebo nepřímo vlivem systému balení na změny baleného produktu během výroby, distribuce a skladování. V každém případě by výrobce potravin měl prokázat, že vývoj výrobku zahrnoval i testy funkčnosti systému balení a musí být schopen specifikovat parametry obalu tak, byl schopen kontrolovat kvalitu dodávaných obalových prostředků [2].

Závěr

Na základě dosavadních zkušeností a znalostí lze z hlediska minimalizace problémů spojených s problematikou funkčních vlastností obalů formulovat následující doporučení pro uživatele obalu (výrobce potravin), který by měl:

- mít jasnou představu o funkci obalu a jeho optimálních parametrech a specifikovat hlavní funkční parametry obalu,
- vyhnout se určení funkčních parametrů vhodného obalu pouze po výrobcí obalu,
- s vývojem baleného produktu provést i vývoj systému balení vedoucího k optimální formě.

Možností, jak docílit výše uvedených doporučení, je více, přičemž většina postupů je specifických a tvořených na míru konkrétnímu typu produktu. Jedním z obecných postupů je snaha maximálně podrobně popsat stávající stav systému balení, které nám dlouhodobě vyhovuje. Popis tohoto stavu by měl zahrnovat tyto kroky:

- získání veškeré údaje o funkčních parametrech používaných obalů. Přičemž vlastní konstrukce obalu, tj. jak jí dodavatel či výrobce dosáhl, může a nemusí být podstatná (např. tloušťka, počet vrstev atd.),
- proměření parametrů, které není dodavatel schopen specifikovat, zejména pokud v minulosti byly příčinou problémů ve výrobě,
- stanovení optimálních podmínek pro činnost používaných balících zařízení (např. podmínky svařování obalových fólií, průběh teplot a tlaků při sterilaci atd.).

Je důležité stanovené vyhovující parametry obalových prostředků zjištěné na základě výše uvedeného popisu vyhovujícího stavu zahrnout do kupních smluv s dodavatelem a jejich plnění důsledně vyžadovat. Zároveň v případě problémů se systémem balení je potřeba dodržení těchto parametrů zkontrolovat, pokud parametry nevyhoví požadovaným hodnotám, tak chtít po dodavateli náhradu. Osvědčuje se i občasná namátková kontrola zvolených parametrů a informace o ní dodavateli. Je potřeba si uvědomit, že vývoj systému balení nemusí být považován za ukončený a je možná i postupná optimalizace balení, tj. hledání optimálního kompromisu mezi ještě vyhovující hodnotou daného parametru systému balení při například snížení ceny obalu. Důležité je taktéž mít v podvědomí to, že některé funkční parametry nelze od výrobce obalu spolehlivě získat, např. korozní stabilitu obalu vůči působení náplně je vždy žádoucí ověřit experimentálními zkouškami.

Literatura

- [1] Robertson, G. L. Food Packaging. Principles and Practice., 3rd ed.; CRC Press: Boca Raton, 2012.
- [2] Dobiáš, J., L. Votavová, a L. Vápenka, Balení potravin. 1 ed. 2019, Praha: VŠCHT. 312.

Kontaktní adresa: vapenka@vscht.cz

Alternativy mléka, budoucnost nebo problém?***Milk alternatives, future or problem?*****Šárka Horáčková**

Ústav mléka, tuků a kosmetiky, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,
Technická 3, 166 28 Praha 6 – Dejvice

Souhrn

V současné době je segment výroby rostlinných náhražek mléka a mléčných výrobků, ale také masa a masných výrobků, nejrychleji se rozvíjející odvětví potravinářského průmyslu v oblasti balených potravin. K jejich výrobě se používají luštěniny, ořechy, semena, obiloviny či pseudoobiloviny. Typy výrobků zahrnují nápoje, fermentované výrobky, alternativy sýrů či roztíratelné produkty. Způsob zpracování rostlinných surovin je od zpracování mléka zcela odlišný a zahrnuje celou řadu operací. Z důvodu udržení konzistence, stability a také senzorických vlastností obsahují rostlinné alternativy často velké množství přídavných látek, a lze je tudíž označit jako vysoce zpracované potraviny. Velké rozdíly lze nalézt v nutriční hodnotě. Kromě sójových nápojů mají rostlinné nápoje velmi nízký obsah bílkovin, stejně tak alternativy sýrů, kde se navíc používá k výrobě nutričně nevhodný kokosový tuk. V současné době také neexistuje žádná legislativa, komoditní vyhláška, která by určovala parametry pro rostlinné alternativy.

Klíčová slova: rostlinné nápoje, alternativy sýrů, fermentované výrobky, nutriční hodnota

Abstract

At present, the segment of the production of plant substitutes for milk and dairy products, but also meat and meat products, is the fastest growing branch of the food industry in the area of packaged foods. Legumes, nuts, seeds, cereals and pseudo-cereals are used for their production. Product types include beverages, fermented products, cheese alternatives or spreadable products. The method of processing vegetable raw materials is completely different from milk processing and involves a number of operations. In order to maintain consistency, stability as well as sensory properties, plant alternatives often contain large amounts of additives and can therefore be described as highly processed foods. Big differences can be found in nutritional value. Expect soy drinks, plant drinks have a very low protein content, as do cheese alternatives, which also contain nutritionally unsuitable coconut fat. There is also currently no legislation that would determine the parameters for plant alternatives.

Keywords: plant drinks, cheese alternatives, fermented products, nutritional value

Úvod

V posledních letech stoupá výroba a spotřeba rostlinných alternativ mléčných výrobků o desítky procent ročně. Vzhledem ke stále stoupajícímu tlaku hlavně z důvodů ekologických se očekává exponenciální růst i v budoucím období. Rostlinné alternativy se vyrábějí z různých surovin, z nichž nejvýznamnější podíl má sója. Z dalších surovin lze jmenovat hrách, cizrnu, ořechy (mandle, kokos, kešu a lískové ořechy), semena (mák, sezam, slunečnice), obiloviny (oves, rýže) či pseudoobiloviny (pohanka, quinoa). Srovnávat rostlinné suroviny se složením kravského mléka je obtížné, neboť obsah hlavních nutrientů je v každé skupině velmi rozdílný. Kravské mléko obsahuje přibližně 12,5 % sušiny, z toho asi 3,2 – 3,6 % bílkovin, 3,5 - 3,8 % tuku, 4 - 5 % laktózy, 0,7 - 0,8 % minerálních látek a 0,1 % vitaminů jak rozpustných ve vodě, tak rozpustných v tuku. Přímou v rostlinných surovinách je vyšší obsah bílkovin v sóje, lupině či konopí, suroviny ze skupiny ořechů a semen obsahují zase velké množství tuku, obiloviny a pseudoobiloviny velké množství škrobu. Rostlinné zdroje poskytují větší množství nenasycených mastných kyselin, jsou dobrým zdrojem vitaminu E. Sója je známým zdrojem fytoestrogenů či fenolových látek. Zásadním rozdílem je zcela chybějící vitamin B₁₂ v rostlinných materiálech a při srovnání složení rostlinných a mléčných bílkovin jejich nedostatečnost v obsahu některých aminokyselin. Zvláště syrovátkové bílkoviny mléka obsahují v příznivém poměru všech 20 aminokyselin, které jsou potřeba pro stavbu bílkovin lidského těla. Jsou bohatým zdrojem sirných aminokyselin, obsahují 3 - 4x více cysteinu než jiné bílkoviny, který je prekursorem silného antioxidantu glutathionu. Žádná z aminokyselin není v mléce nedostatková (limitní), jak je tomu u některých rostlinných bílkovin (cereální bílkoviny – nedostatek lysinu, luštěniny – nedostatek sirných aminokyselin, apod.).

Technologie výroby

Technologické operace používané pro výrobu rostlinných nápojů jsou ve srovnání s ošetřením mléka velmi odlišné. Pro zpracování základní suroviny je nutné použít celou řadu operací jako je loupání, pražení, blanšování, vaření či klíčení. Tyto procesy mají za cíl zvýšení sensorické hodnoty suroviny (často i samotné požitelnosti), podpoření tvorby aroma, ale také odstranění některých antinutričních látek, jako jsou např. inhibitory trypsinu. Poté následuje máčení a mokré mletí nebo suché mletí a vodná extrakce. Podmínky extrakce mohou do značné míry zvýšit výsledný výtěžek procesu. Většina rostlinných bílkovin má izoelektrický bod pH 5, a tak při alkalizaci extrakční vody dojde k jejich větší rozpustnosti. Vyšší teplota zvyšuje extrakci tuků, ale naopak může způsobit denaturaci bílkovin a opět jejich menší rozpustnost. V některých případech se mohou přidávat hydrolytické enzymy pro štěpení bílkovin a polysacharidů (škrobu) pro zvýšení výtěžnosti extrakce. Po extrakci následuje přidavek stabilizátorů, někdy ochucovadel, nápoje jsou homogenizovány a nakonec tepelně ošetřeny pasteurací nebo UHT záhřevem.¹

Pro přípravu fermentovaných rostlinných výrobků se používají směsi různých extraktů se zvýšenou sušinou. Jelikož tyto suroviny často neobsahují dostatečné množství fermentovatelných cukrů, musí se jejich obsah navyšovat přidavkem např. sacharózy nebo glukózo-fruktózového sirupu. Kromě toho se z důvodů udržení konzistence, textury

výrobku i senzorických vlastností používá celá řada dalších přídatných látek, jako jsou škrob, modifikované škroby, karboxymethylcelulóza, pektiny, regulátory kyselosti, aroma, barviva, antioxidanty, fosforečnany, sůl apod.² Tyto potraviny pak lze považovat za tzv. vysoce zpracované potraviny.

Pro výrobu fermentovaných rostlinných výrobků se používají běžné bakterie mléčného kvašení, které označují výrobci jako vegetariánské či veganské. Je to většinou jogurtová kultura (*S. thermophilus*, *L. delbruckii* subsp. *bulgaricus*), *Lactobacillus acidophilus*, bifidobakterie či některé probiotické kmeny (*L. rhamnosus* LGG, vybrané kmeny *L. casei* apod.). V tomto směru neexistuje kontrola obsahu – počtu uváděných bakterií. Na rozdíl od fermentovaných mléčných výrobků, kde je počet vybraných druhů mikroorganismů přesně dán Vyhláškou č. 274/2019 Sb.; (Vyhláška, kterou se mění Vyhláška č. 397/2016 Sb. o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje) není žádným legislativním dokumentem určen požadovaný počet prospěšných bakterií v těchto výrobcích.

Pro výrobu rostlinných alternativ sýrů jsou zpravidla využívány dvě možnosti technologického postupu. První je založena na bázi polysacharid – rostlinný tuk/olej, kdy kontinuální fázi tvoří většinou škrob, inulin, xanthan, karagenan, v té jsou dispergovány kapičky tuku. Po zahřátí a homogenizaci následuje chlazení, při kterém dochází k retrogradaci škrobu a krystalizaci rostlinného tuku. V druhém případě je kontinuální fází obvykle také polysacharid s dispergovaným tukem, rostlinnými bílkovinami, případně nerozpustnou vlákninou. Zesíťování v tomto případě probíhá díky tepelnému záhřevu – tepelné denaturaci bílkovin, či díky použití enzymů tyrozinázy a transglutaminázy. Někdy se používá také okyselení, ať už glukonolaktonem nebo díky metabolické aktivitě bakterií mléčného kvašení. Další kroky tohoto procesu připomínají technologii sýrů – krájení, filtrace, formování, lisování. V obou výše uvedených technologiích se získávají viskoelastické produkty, které jsou často rovněž barveny či různě ochucovány.^{4,5} Na českém trhu se většinou vyskytují výrobky na bázi škrobu a kokosového tuku, které mají nevýhodné nutriční složení, jak je uvedeno dále. Označování těchto výrobků může vést často ke klamání konzumentů, neboť využívají názvů tradičně vyráběných sýrů z mléka, jako je např. mozzarella, cheddar apod.

Nutriční hodnoty rostlinných alternativ

K výrobě rostlinných nápojů se používá často velmi malé množství výchozí suroviny, a tak je obsah hlavních nutrientů v konečném produktu ve srovnání s mlékem také velmi malý, jak je patrné z tabulky I.

Tab. I. Porovnání nutričního složení mléka a rostlinných nápojů (dle údajů výrobce)

ve 100 ml	Polotučné mléko	Rýžový nápoj	Sójový nápoj
Energetická hodnota	197 kJ/47 kcal	202 kJ/48 kcal	163 kJ/38 kcal
Tuky	1,5 g	1,1 g	1,8 g
z toho nasycené mastné kyseliny	0,9 g	0,1 g	0,3 g
Sacharidy	4,9 g	9,4 g	2,5 g
z toho cukry	4,9 g	6,7 g	2,5 g
Bílkoviny	3,4 g	0,1 g	3 g
Sůl	0,3 g	0,7 g	0,11 g
Vápník	125 mg	120 mg*	-
Vláknina	-	0,1 g	0,5 g

* fortifikováno

Kromě nízkého obsahu bílkovin v rostlinných nápojích (kromě sójových) může být nedostatkem i vyšší obsah cukrů. Výhodou laktózy v mléce je nízký glykemický index. Rostlinné nápoje nejsou ani zdrojem vlákniny.¹

Podobné nutriční srovnání pro sýr typu Eidam a rostlinnou alternativu je uvedeno v Tabulce 2.

Tab. 2. Porovnání nutričního složení sýra typu Eidam a rostlinné alternativy

ve 100 g	Sýr Eidam	Rostlinná alternativa
Energetická hodnota	1105 kJ/265 kcal	1190 kJ/285 kcal
Tuky	16 g	23 g
z toho nasycené mastné kyseliny	10,5 g	21 g
Sacharidy	1,2 g	20 g
z toho cukry	1,2 g	0,1 g
Bílkoviny	29 g	0,4 g
Sůl	1,5 g	2,3 g
Vápník	125 mg	-
Vitamin B ₁₂	-	2,5 µg*

* fortifikováno

Zatímco složení sýra Eidam je pouze mléko, sůl a mléčné kultury, rostlinná alternativa obsahuje ve složení vodu, kokosový olej 21 %, škrob, modifikovaný škrob, mořskou sůl, aroma, extrakt z oliv, barvivo beta-karoten a vitamin B₁₂. Z Tab. 2 je patrné nevýhodné nutriční složení, rostlinná alternativa obsahuje v podstatě pouze škrob a tuk s vysokým obsahem nasycených mastných kyselin.

Závěr

Mléko je čistě přírodní produkt, který obsahuje všechny důležité nutrienty. Je významným zdrojem plnohodnotných bílkovin, vápníku a dalších minerálních látek, které jsou z této suroviny dobře vstřebatelné a využitelné. I když je nesporným faktem, že výroba rostlinných alternativ se bude dále vyvíjet, je nutné neustále připomínat, že nutriční složení těchto typů výrobků je zcela odlišné. Rostlinné alternativy mohou obsahovat antinutriční látky, řada rostlinných bílkovin je rovněž silnými alergeny. I když jsou tyto výrobky často fortifikovány vápníkem nebo vitaminem B₁₂, jejich substituce nezmírňuje rizika deficitu zvláště ve výživě dětí.⁶ Pro zajištění vyvážené stravy je nutné pozorně sledovat jejich složení. V řadě případů je nelze považovat za plnohodnotnou náhradu mléka a mléčných výrobků.

Literatura

1. Makinen O. E., Wanhalinna V., Zannini E., Arendt E. K.: Foods for special dietary needs: Non-dairy plant-based milk substitutes and fermented dairy-type products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56, 339-349 (2016).
2. Silva A. R. A., Silva M. M. N., Ribeiro B. D.: Health issues and technological aspects of plant-based alternative milk. *Food Research International* 131, 108972 (2020).
3. Jeske S., Zannini E., Arendt E.K.: Evaluation of physicochemical and glycaemic properties of commercial plant-based milk substitutes. *Plant Foods for Human Nutrition* 72, 26-33 (2017).
4. Grossmann L., McClements D. J.: The science of plant-based foods: Approaches to create nutritious and sustainable plant-base cheese analogs. *Trends in Food Science and Technology* 118, 207-229 (2021).
5. Kamath R., Basak S., Gokhale J.: Recent trends in the development of healthy and functional cheese analogues – a review. *LWT – Food Science and Technology* 155, 112991 (2022).
6. Cofnas N. (2019): Is vegetarianism healthy for children? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 59 (13): 2052-2060.

Kontaktní adresa: email: sarka.horackova@vscht.cz

R11

Uhlíková stopa potravin v kontextu jejich výživové hodnoty

Carbon footprint of foods in the context of their nutritional value

Jan Pivoňka, Magdaléna Hrubá

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

Klíčová slova: potraviny, uhlíková stopa, udržitelnost, výživová hodnota, bílkoviny

Abstrakt

Produkce potravin činí zhruba 26 % celkové světové produkce skleníkových plynů, přičemž dominantní část je tvořena produkcí živočišnou, a to především produkcí masa přežvýkavců. Zároveň je však zřejmé, že výživová hodnota potravin živočišného původu je významně odlišná od potravin rostlinného původu a to včetně značné rozdílnosti v obsahu bílkovin a jejich kvality. Článek přináší srovnání uhlíkové stopy různých potravin s a bez zohlednění jejich nutriční density a ukazuje, že způsob vyjádření uhlíkové stopy při zohlednění obsahu a kvality živin může zcela změnit současný negativní pohled na potraviny živočišného původu jako hlavní původce skleníkových plynů.

Abstract

Food production accounts for roughly 26% of the world's total greenhouse gas production, with the dominant part being animal production, primarily the production of ruminant meat. It is clear that the nutritional value of foods of animal origin is significantly different from foods of plant origin, including significant differences in protein content and quality. The article compares the carbon footprint of various foods with and without taking into account their nutritional density and shows that the way of expressing the carbon footprint while taking into account the content and quality of nutrients can completely change the current negative view of animal foods as the main generator of greenhouse gases.

Zajištění dostatečného množství bezpečných potravin je tématem pro národní státy tak i pro nadnárodní organizace již nespočet let. V posledních dekáдах se však stávají čím dále častěji důležitým tématem i podmínky za kterých jsou potraviny vyráběné. Během minulého století, kdy stály v popředí nejprve bezpečnost a senzorické vlastnosti potravin, se později dostaly do popředí i výživová hodnota a způsob produkce, reprezentovaný například produkcí systémem ekologického zemědělství. Počátkem 21. století se čím dále častěji diskutuje i problematika globální udržitelnosti produkce a spotřeby potravin a to i

v kontextu rostoucí světové populace a současné změny klimatu. Začíná se tak čím dále častěji diskutovat problematiku udržitelnosti výživy nebo diety.

Podle definice FAO je dieta udržitelná, pokud je nutričně adekvátní, cenově dostupná, bezpečná a kulturně přijatelná, a přitom šetří přírodní a lidské zdroje. Za účelem postupného zajištění udržitelnosti výživy jsou proto postupně přijímána doporučení na mezinárodní úrovni a opatření na úrovni jednotlivých států nebo jejich unií (např. EU). Mezi tato opatření patří především efektivní využívání půdy, vody a energetických zdrojů, jakož i ochrana biologické rozmanitosti a ochrana ekosystémů. Analýza produkce skleníkových plynů souvisejících s výrobou živočišných potravin ovlivnily zemědělské a zemědělské politiky, zejména v Evropské unii – Strategie Farm to Fork.

Hlavními zdroji skleníkových plynů souvisejících s potravinami jsou zemědělská výroba, zpracování potravin, doprava, distribuce a skladování, stejně jako příprava potravin, ale i odpady a jejich likvidace. Uvádí se, že podíl zemědělství a potravinářského průmyslu na globální produkci skleníkových plynů se pohybuje přibližně okolo 26 % z celkové produkce způsobené lidskou činností. Podstatnou část však tvoří zemědělská produkce. Z těchto 26 % připadá zhruba 24 % na zabírání půdy pro potřeby zemědělství, dalších 27 % je rostlinná produkce a 31 % živočišná výroba a produkce ryb. Pouhých 18 % celého agropotravinářského sektoru připadá na dodavatelský řetězec zahrnující výrobu potravin, balení, logistické služby a samotný prodej. Reálně se tedy výroba potravin podílí na celkové produkci skleníkových plynů pouhým 1 % z celkového množství skleníkových plynů vyprodukovaných člověkem.

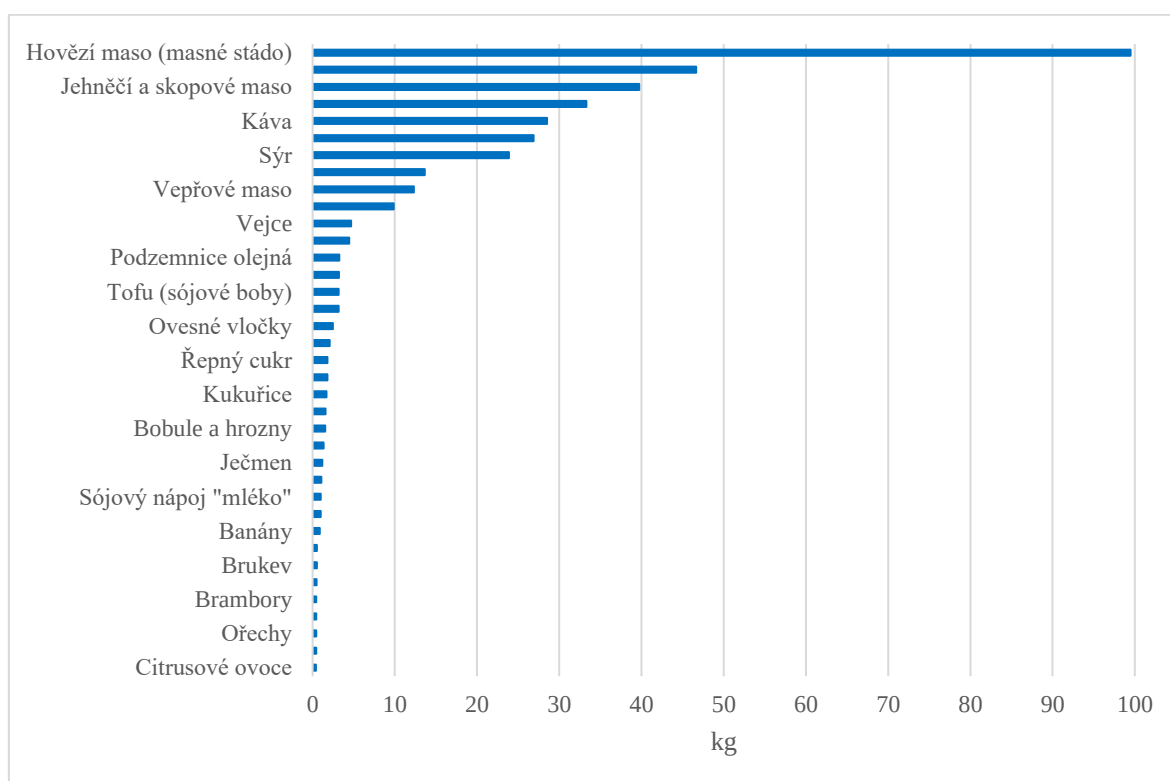
Dále je třeba vzít do úvahy rozsah celosvětové produkce skleníkových plynů z potravin podle jednotlivých regionů. Podle údajů z roku 2015 je největším producentem s 20 % Čína, následovaná USA, Brazílií, Indií, Indonézií a Ruskem, kteří se podílejí jednotlivě na produkce zhruba 10 %. Reálný podíl na celosvětové produkci ze zemědělství činí v jednotlivých státech EU řádově desetiny procenta až nízké jednotky procent, přičemž největším producentem v EU je Německo, které se podílí na světové produkci skleníkových plynů ze zemědělství zhruba 2,5 %. V tomto kontextu se mohou zdát cíle strategie Farm to Fork pro EU poněkud iluzorní a pokud se nepodaří EU dosáhnout aplikace na úrovni celosvětové i s relativně nízkým dopadem. Zároveň se však ukazuje, že celosvětová implementace strategií EU, vedoucí ke snížení produktivity zemědělsko-potravinářského sektoru, by se významně podepsala na globální potravinové soběstačnosti a zřejmě by v některých regionech propukly hladomory a související sociální nepokoje.

Evropská strategie z farmy na vidličku si přesto klade velmi ambiciózní cíle v oblasti agropotravinářského sektoru, mezi které patří například:

- Snížení objemu používaných rizikových pesticidů o 50 %
- Snížení objemu používaných hnojiv o 20%
- Snížení množství používaných antimikrobiálních látek v živočišné výrobě a v akvakulturách o 50 %

- Hospodařit alespoň na 25 % půdy v režimu ekologického zemědělství

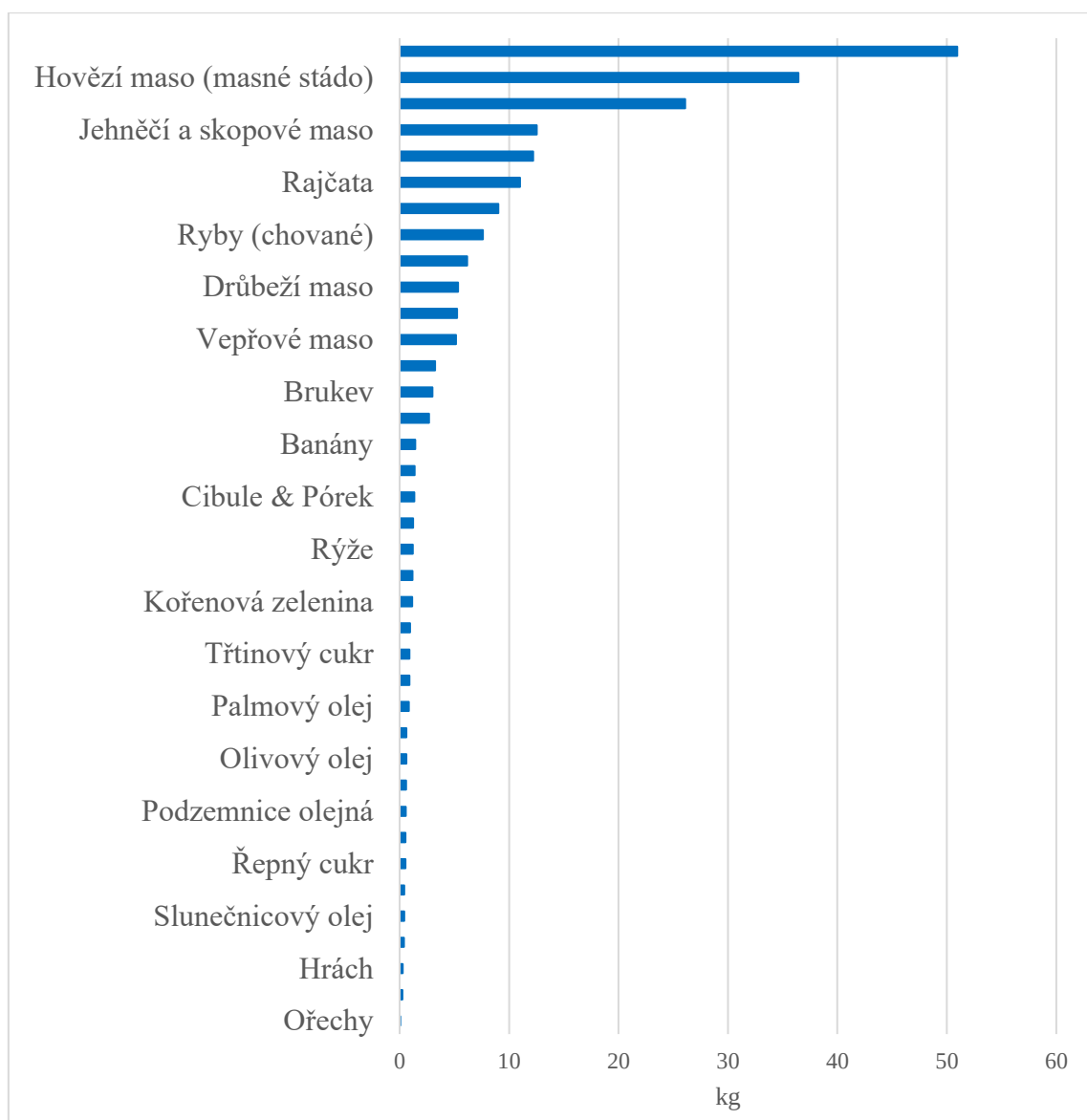
Zároveň jsou v rámci strategií stanoveny cíle týkající se redukce živočišné produkce a její náhrada produkcí rostlinnou s nižší produkcí skleníkových plynů. Živočišná produkce je totiž díky produkci metanu v předžaludcích přežvýkavců významným přispěvatelem v zemědělském sektoru. V tomto kontextu je však důležité zohlednit rovněž výživovou hodnotu různých potravin prezentovaných jako alternativu k potravinám živočišného původu a tuto promítnout rovněž do celkové uhlíkové stopy. Je třeba si uvědomit, že náhradu potravin živočišného původu není možné provádět stejnou hmotností potravin živočišného původu, protože nutriční densita potravin rostlinného původu je ve většině případů nižší než u potravin živočišného původu. Při výpočtech uhlíkové stopy jednotlivých potravin a je tedy nutné zohledňovat i jejich výživovou hodnotu a obvyklé denní spotřeby. Zatímco na při přepočtu na kilogram produkované potraviny jsou jednoznačně dominantními přispěvateli potraviny živočišného původu (Obrázek 1). Je však nutné si uvědomit, že klíčovou živinou, která hraje zásadní roli z pohledu produkce skleníkových plynů jsou bílkoviny (Tabulka 1), které by tedy měly být především zahrnuty do výpočtu uhlíkové stopy. Při přepočtu na množství bílkovin se do popředí dostávají i jiné potraviny (Obrázek 2) a s výjimkou masa přežvýkavců již není dominantní postavení potravin živočišného původu tak jednoznačné.



Obrázek 1: Emise skleníkových plynů na kilogram potravinářského výrobku

Tabulka 1: Podíl příjmu bílkovin z jednotlivých zdrojů na průměru EU-28

	g na hlavu a den	podíl (%)
Maso	17,3	29
Mléčné výrobky	13,4	22
Vejce	2,8	5
Ryby, mořské plody	2,7	4
Cereálie	16,3	27
Škrobové kořeny	1,7	3
Luštěniny	1,5	2
Ořechy + olejniny	1	4
Zelenina + ovoce	3	5



Obrázek 2: Emise skleníkových plynů na 100 g bílkovin

Pokud dále zohledníme i kvalitu a využitelnost bílkovin z různých zdrojů (Tabulka 2) a do propočtu zahrneme i skóre DIAAS (Digestible Indispensable Amino Acid Score) a obvyklou velikost porce, dostaneme zcela jiné výsledky, ve kterých se sice na prvním místě stále drží maso přežvýkavců, které je však následováno rýží, chlebem a těstovinami, přičemž ostatní masa (vepřové a drůbeží) jsou na úrovni zeleniny a luštěnin.

Tabulka 2: Kvalita bílkovin z různých zdrojů

Typ bílkoviny	DIAAS	Limitující aminokyselina	Kompletní bílkovina
Kravné mléko	1,14	Met+Cys	ANO
Kuřecí prsa	1,08	Trp	ANO

Hovězí maso	1,12	Trp	ANO
Vejce	1,13	His	ANO
Hrách	0,58	Met+Cys	NE
Soja	0,91	Met+Cys	ANO
Pšenice	0,40	Lys	NE
Rýže	0,47	Lys	NE
Mandle	0,40	Lys	NE

Jako alternativní zdroje bílkovin jsou uvažovány tkáňové kultury, hmyz a rostlinné bílkoviny. U tkáňových kultur zatím neproběhla průmyslová realizace a je nutný další výzkum, aby bylo možné dosáhnout průmyslového měřítka. I z toho důvodu zatím nebyla spočítána uhlíková stopa, která by zahrnovala všechny fáze produkce, včetně produkce substrátů a pomocných látek. Předpokládá se, že při výrobě by bylo nutné používat antibiotika a aminokyseliny během kultivací a předpokládá se také suplementace růstových substrátů například o železo nebo vybrané vitamíny. Kromě výše uvedených bariér nejsou produkty z tkáňových kultur zatím schválené a doposud ani žádná společnost nepožádala o schválení této potravinu nového typu. Obdobná je i situace týkající se řas. Situace u výrobků z hmyzu je podstatně lepší, protože legislativním procesem bylo již schváleno několik druhů hmyzu a je tedy možné z nich vyrábět potraviny.

Specifickou skupinu výrobků pak tvoří imitace masných a mléčných výrobků vyrobené především z luštěnin a obilovin. Na trhu již je celá řada těchto produktů avšak jejich kvalita je různá a spotřebitelé obvykle nechápou správně rozdíl v kvalitě mléka a těchto produktů, které jsou nesprávně označovány jako alternativa mléka. Srovnání vlastností imitací mléka a s mlékem (Tabulka 3) ukazuje na významný rozdíl například v obsahu bílkovin.

Tabulka 3: Porovnání vlastností imitací mléka s mlékem

Obsah nutrientů	Mandle	Rýže	Mák	Kokos s rýží	Sója	Oves I	Oves II	Mléko polot.
Tuky	2,06	0,93	3,06	0,93	1,45	1,15	1,33	1,5
nasycené	0,59	0,1	0,33	0,81	0,22	0,15	0,18	0,97
-monoén	1,08	0,26	0,52	0,05	0,25	0,39	0,43	0,41

-polyen	0,29	0,53	2,06	0,01	0,91	0,55	0,66	0,04
Bílkoviny	0,80	<0,10	1,39	0,13	2,83	0,24	0,40	3,5
Vápník	57,7	10,1	707	125	126	120	9,5	100-120

V tomto kontextu je nutné rovněž uvést, že imitace mléka mají zhruba třetinovou uhlíkovou stopu na jeden litr ve srovnání s mlékem. Kompenzace v podobě mnohonásobně vyššího obsahu bílkovin však činí tento argument irelevantním. Navzdory této skutečnosti je však často využíván při propagaci imitací mléka.

Závěr

Závěrem lze konstatovat následující:

- Největším zdrojem uhlíkových plynů v přepočtu na výživovou hodnotu je hovězí a skopové maso
- Vepřové maso a drůbež mají při přepočtu na obsah a kvalitu bílkovin uhlíkovou stopu srovnatelnou se zeleninou a luštěninami.
- Mléko při přepočtu na obsah bílkovin nepřevyšuje většinu ostatní imitací na bázi obilovin a luštěnin
- Dovoz surovin ze třetích zemí, které nesledují stejné cíle jako Strategie Farm to Fork může mít výrazný negativní efekt na jejich ekologickou stopu
- Rostlinné alternativy k potravinám živočišného původu mohou být částečným řešením za předpokladu, že jsou správně zpracovány LCA v celém řetězci se zohledněním specifik produkce
- Alternativy mléka a masa mají odlišnou výživovou hodnotu a je vhodné pro ně hledat jiné názvy, aby se spotřebitel mohl dobře orientovat
- Propagace alternativ k potravinám živočišného původu musí být korektní – očekávaná regulace zelených tvrzení

Literatura

Bamber, N., I. Turner, V. Arulnathan, Y. Li, et al. Comparing sources and analysis of uncertainty in consequential and attributional life cycle assessment: review of current practice and recommendations. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 2019, 25(1), 168-180, 10.1007/s11367-019-01663-1.

Detzel, A., M. Kruger, M. Busch, I. Blanco-Gutierrez, et al. Life cycle assessment of animal-based foods and plant-based protein-rich alternatives: an environmental perspective. *J Sci Food Agric*, Jul 7 2021, 10.1002/jsfa.11417.

Drewnowski, A. Perspective: Identifying Ultra-Processed Plant-Based Milk Alternatives in the USDA Branded Food Products Database. *Adv Nutr*, Dec 1 2021, 12(6), 2068-2075, 10.1093/advances/nmab089.

Shrink That Footprint: The big question: what diets drive carbon emissions and by how much. In., 2022,

Ritchie H., Roser M. (2020) - "Environmental Impacts of Food Production". Published online at [OurWorldInData.org](https://ourworldindata.org/environmental-impacts-of-food). Retrieved from: 'https://ourworldindata.org/environmental-impacts-of-food' [Online Resource]

Kontakt

Ing. Jan Pivoňka, Ph.D.

Jan.pivonka@vscht.cz

VŠCHT Praha

Ústav konzervace potravin

166 28 Praha 6 – Dejvice

P1

Hodnocení tlakových účinků u pasterovaných produktů

Evaluation of pressure effects of pasteurized products

Josef Bauer, Barbora Černá, Štěpán Janoud, Rudolf Ševčík

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

Souhrn

V této práci se hodnotila míra tepelné účinnosti pasteračního záhřevu a jeho průběh. Porovnávaly se rozdíly v závislosti na odlišných parametrech jednotlivých náplní roztoků a sledovaných matic (hrášek, fazolky, mleté maso). Kromě teploty, ukazatele potřebného pro posouzení bezpečné konzervace potravin, se zaměřila tato práce na průběh tlaku uvnitř výrobků. Vzorky byly porovnány mezi sebou a následně byly diskutovány vlivy zahrnující mechanismus sdílení tepla, obsah head-space prostoru, složení potravin, a to jak z pohledu typu náplně, tak i její koncentrace.

Summary

In this work, the degree of thermal efficiency of pasteurization heating and its course were evaluated. Differences were monitored depending on different parameters of individual fillings of solutions and monitored matrices (peas, beans, minced meat). In addition to temperature, an indicator needed to assess the safe preservation of food, this work focused on the course of pressure inside the products. The samples were compared with each other and subsequently the influences were discussed, including the mechanism of heat sharing, the content of the head-space, the composition of the food, both in terms of the type of filling and its concentration.

Klíčová slova: *Pasterace, tlakové účinky, head-space*

Úvod do problematiky

Tepelné ošetření (pasterace a sterilace) patří mezi konzervační zákroky zajišťující trvanlivost a bezpečnost potravin. Nesprávné vedení procesu může vést k nedostatečnému nebo naopak nadměrné opracování výrobku, zároveň vývoj tlaku spojený se záhřevem může být příčinou poškození celistvosti obalu výrobku. Tepelný záhřev patří mezi fyzikální abiotické metody, kdy dochází k přímé inaktivaci mikroorganismů. Při zákroku se nedosahuje absolutní sterility, neboť by byly produkty vystaveny příliš vysokému tepelnému namáhání. Záměrem je docílit tzv. praktické

sterility, kdy jsou přítomné mikroorganismy v takovém složení a počtu, že nepředstavují zdravotní riziko pro konzumenta [1-3].

S rostoucí teplotou během pasterace dochází ke zvyšování tlaku v pracovním prostoru pastéru/autoklávu a současně se zvyšuje vnitřní tlak v produktu. Tyto tlaky se mnohdy liší díky zpožděné reakci během vedení procesu. Uvnitř produktu expanduje vzduch v prostoru nad potravinou a zvyšuje se vnitřní parciální tlak vodní páry. Zároveň dochází k expanzi pevných a kapalných složek dané potraviny [4-6].

Proces tepelného ošetření ve výrobku se ověřuje pomocí teplotních čidel. Čidla spojená s řídicí nebo záznamovou jednotkou pomocí kabelů jsou konstruována různými způsoby tak, aby bylo možné umístit senzorový prvek do místa nejvíce vhodného vzhledem ke geometrickým parametrům výrobku – tedy do nejhůře prohřívaného místa. Čidla jsou připojena na vhodné zařízení nebo počítač shromažďující naměřená data. Na trhu jsou dále dostupná čidla bezdrátová, která mají uvnitř zabudované elektronické součástky zodpovědné za sběr a ukládání dat. Tato měřicí jednotka se skládá ze zcela samostatného miniaturního počítače, schopného zaznamenávat data v rozmezí frekvencí jedné sekundy až jednoho dne [7-8].

Pro kontrolu a řízení procesu pasterace či sterilace se využívají i tlaková čidla, která sledují tlakové poměry během procesu v pracovním prostoru pastéru/autoklávu. Tato čidla lze využít i pro kontrolu tlaku uvnitř výrobků. Senzorem je deformační tlakoměrný prvek (např. membrána), který poskytuje výstupní signál. K převodu tlaku na výstupní signál se využívají různé fyzikální principy, podle kterých se tlakoměry dělí [9].

Materiál a metodika

Příprava roztoků

Koncentrace roztoků soli a cukru byly voleny tak, aby se svou hodnotou co nejvíce blížily běžným obsahům těchto látek v konzervovaných potravinách, a aproximovaly tak co nejširší škálu produktů na výrobním poli. Potřebná množství soli a cukru se navážila a smísila s příslušným objemem destilované vody, čímž se připravily zásobní roztoky. Následně se potřebné objemy roztoků pro plnění plechovek a sklenic odměřily pomocí odměrného válce. Jednotlivé roztoky jsou uvedeny v **Tabulce č. 1**.

Tabulka 1: Parametry měřených vzorků roztoků

Vzorek	Náplň (%)	Koncentrace (%)	Objem vzorku (ml)	
			Plechovka	Sklenice
Destilovaná voda	50	-	-	340
	75	-	310	510
	95	-	400	650
	100	-	440	-
Sůl	75	1	310	510
	95	1	400	650
	75	5	310	510
	95	5	400	650
Cukr	75	10	310	510
	95	10	400	650
	75	15	310	510
	95	15	400	650

Příprava produktů

Mleté maso bylo smíseno se solí tak, aby její obsah ve výsledném produktu činil 1,5 %. Po pečlivém promíslení surovin se maso nechalo odstát, aby dosáhlo pokojové teploty. Zmrazené fazolky a hrášek se nechaly rozmraznout při pokojové teplotě a plnily se do nádob v původním stavu bez jakékoliv úpravy. Potřebné parametry jsou uvedeny v **Tabulce č. 2**. Při přípravě vzorků s přítomným headspace prostorem, se množství přidané destilované vody volilo tak, aby její hladina korelovala s obsahem suroviny. Ve výrobcích bez headspace prostoru bylo množství destilované vody takové, aby byl eliminován veškerý zbytkový vzduch.

Tabulka 2: Parametry měřených produktů pro pasterační ošetření

Produkt	Náplň (%)	Hmotnost produktu	
		Surovina (g)	Destilovaná voda (g)
mleté maso*	95	330	-
	75	260,4	-
fazolky	100	235	170
	95	171	150
	75	135	150
hrášek	100	250	170
	95	237,5	150
	75	187,5	110

Pozn. 1: *) Navážka syrového masa včetně soli

Vedení pasteračního záhřevu

Hermeticky uzavřené produkty ve sklenicích a plechovkách vybavené teplotními a tlakovými čidly se umístily do pastéru, jenž se předem zahřál, aby se v něm dosáhlo

teploty 95 °C, tato teplota byla neměnně nastavena po celou dobu záhřevu. Po umístění do pastéru se začal měřit celý cyklus, složený ze dvou fází. První fází byl záhřev a dále následovala fáze chlazení s nastavenou teplotou 5°C. Data byla zaznamenávána softwarem Val Suit Pro. A softwarem Data Trace.

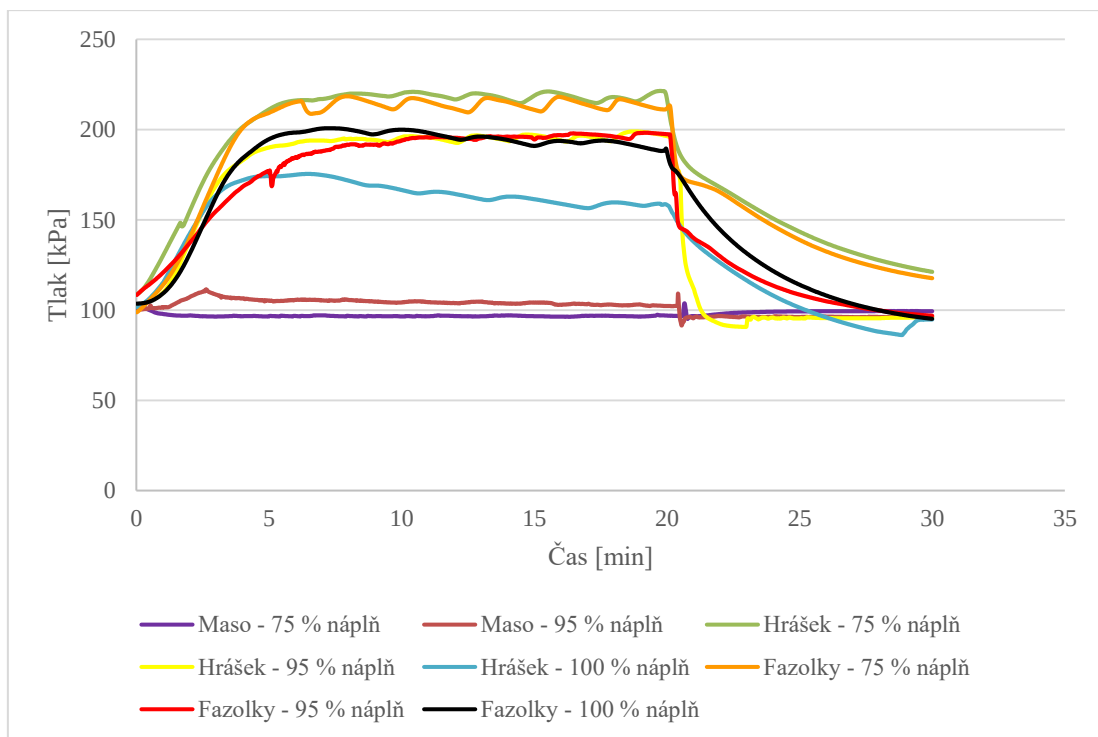
Experiment pro měření vývoje tlaku se realizoval pro roztoky, připravené podle **Tabulky č. 1**, a produkty, připravené podle **Tabulky č.2**. Sklenice se plnily množstvím náplně 75 % a 95 %. Plechovky se plnily množstvím náplně 75 % a 95 %, u hrášku a fazolek pak ještě 100 %. Každý vzorek byl měřen s následným opakováním, kdy se pokaždé obsah nádoby plnil čerstvou náplní, aby se docílilo stejných počátečních teplot. Roztoky, destilovaná voda, hrášek a fazolky byly vystaveny pasteračnímu ošetření, jehož parametry jsou uvedeny v **Tabulce č. 3**. V tomto experimentu se každý vzorek hodnotil jako polokonzerva. Ta podle české legislativy musí splňovat kritérium tepelného ošetření ve všech částech na teplotu, jejíž účinky odpovídají účinkům 100 °C působící nejméně po dobu 10 min [10].

Tabulka 3: Parametry pasteračního záhřevu č. 1

Parametr	Hodnota
Teplota uvnitř konvektomatu	95 °C
Fáze záhřevu	20 min
Fáze chlazení	10 min

Výsledky a diskuze

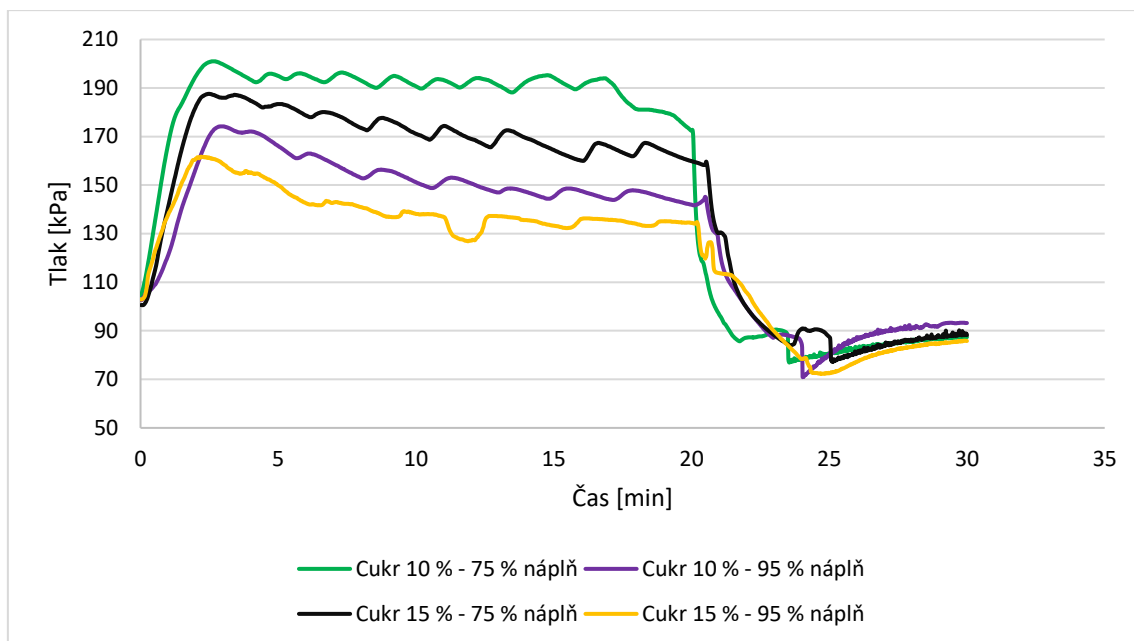
V této práci jsou pro výsledky a diskusi vybrány pouze grafy s vývojem tlaku v produktech s odlišnými vzduchovými prostory (**Graf 1**) a dále roztoky cukrů (**Graf 2**).



Graf 1: Průběh tlaků v závislosti na množství náplně u produktů

Nejvyšších hodnot tlaku dosáhly hrášek a fazolky s náplní 75 %, tedy s největším headspace prostorem. Větší vzduchová komora poskytuje náplni větší prostor pro teplotní expanzi, způsobenou teplotní roztažností náplně, vypuzováním plynů z pletiv a zvyšováním tlaku nasycených par vody se vzrůstající teplotou. Následkem dochází ke kompresi vzduchu, a tedy k nárůstu tlaku. U hrášku je tento trend viditelný, se snižujícím se objemem headspace prostoru klesá i tlak. U fazolek se splnil předpoklad pouze pro náplně 75 % a 95 %. U náplně 100 % se však hodnoty tlaku pohybují v rozmezí hodnot jako u náplně 95 %. Je možné, že při měření došlo k úniku vody netěsností v konzervě, což mohlo zapříčinit následný vzrůst tlaku.

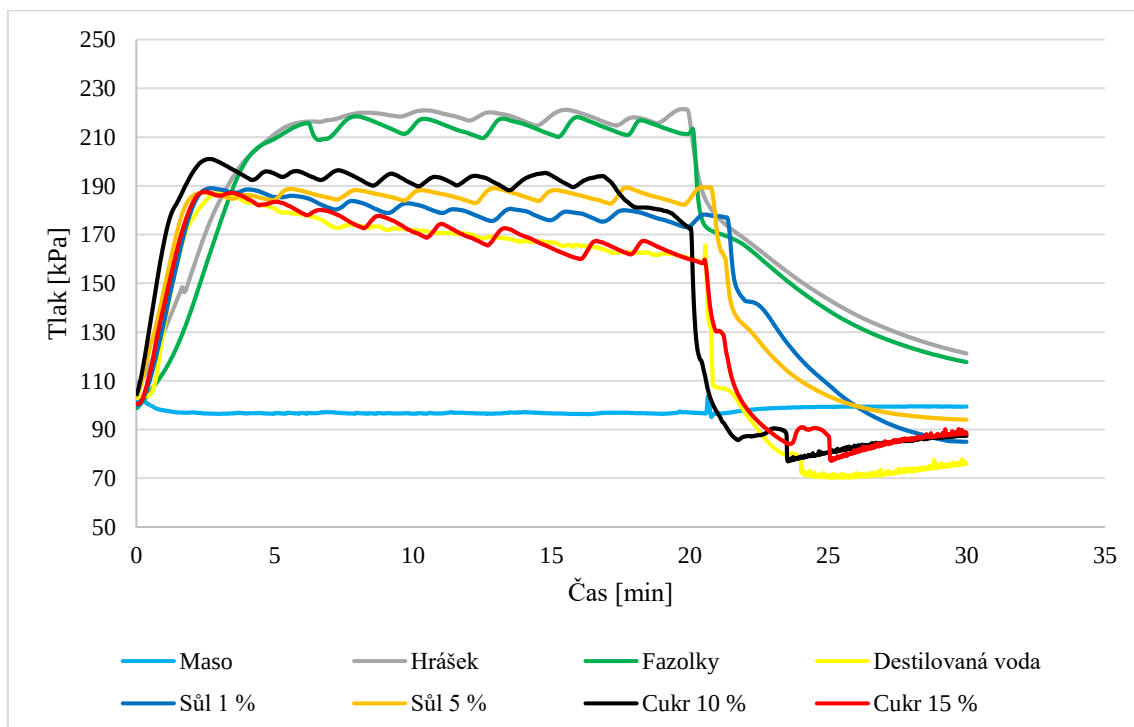
U masa je záznam tlaku podstatně odlišného charakteru. Z grafu není viditelné, že by se tlak vyvíjel se vzrůstající teplotou jako je tomu u ostatních produktů. U náplně 95 % je z počátku vidět mírný vzestup a při přechodu mezi fázemi záhřevu a chlazení mírný pokles. Příčinou může být stále nízká teplota uvnitř masa, která po 20 minutách záhřevu nepřekročila ani v jedné z náplní hranici 52 °C ve středu konzervy, kde bylo taktéž umístěno tlakové čidlo. Maso, jakožto zástupce konduktivní konzervy, má zcela odlišný vývoj tlaku v souvislosti s jiným mechanismem sdílení tepla a pro zhodnocení je 30 minutový cyklus nedostačující.



Graf 2: Průběh tlaků v závislosti na množství náplně u roztoků cukru

Vliv matrice

Následující **graf číslo 3** porovnává vývoj tlaku mezi jednotlivými matricemi při obsahu náplně 75 %.



Graf 3: Průběh tlaku v produktech a roztocích s obsahem náplně 75 %

Nejvyšších hodnot tlaku dosáhly fazolky a hrášek. Vzhledem k vysokému obsahu vody v surovině jako takové, a zároveň vyplnění volného prostoru mezi jednotlivými kusy produktu nálevem (destilovanou vodou), byla zajištěna vysoká aktivita vody, která je přímo úměrná tlaku. Kromě vysoké aktivity vody přispívají k vyššímu tlaku i plyny, obsažené v pletivech fazolek a hrášku, které se během záhřevu uvolňují. U roztoků cukru a soli bylo dosaženo nižších tlaků než v případě předchozích dvou produktů, což odpovídá větší koncentraci rozpuštěných látek. Pokles tlaku se zvyšující se koncentrací roztoku, a tedy snížení aktivity vody tohoto roztoku dokazuje roztok cukru. Matrice v podobě masa je zcela odlišná od předchozích, proto i průběh tlaku bude zcela odlišný. V tomto případě je křivka navíc téměř konstantní.

Závěr

Optimalizace tepelného ošetření potravin by měla zajistit takové podmínky při vedení procesu, aby produkce výrobků byla efektivní, nákladově přijatelná, a aby byly splněny bezpečnostní, senzorické a nutriční požadavky pro daný produkt. Pro hodnocení tepelného záhřevu je k dispozici více metod, tento parametr musí být pečlivě hlídán, aby bylo dosaženo zdravotní nezávadnosti. V případě výrobků, u nichž se uplatňuje zejména kondukce, by se měl teplotní program volit s velkým zřetelem, neboť je časově náročnější než konvektivní produkty. U dosažení požadovaného účinku je třeba brát zřetel na množství náplně, kdy se v tomto případě dosažená P – hodnota lišila v řádu jednotek při změně velikosti head-space prostoru o 20 %. I v případě změny koncentrace rozpuštěných látek ve výrobku dojde ke změně P hodnoty.

Oproti teplotě je průběh tlaku v produktu při záhřevu parametrem málo měřeným. Naměřené tlaky ve výrobcích se lišily v závislosti na typu náplně i jejím množství, přičemž větší množství head-space prostoru bylo příčinou dosažení vyšších hodnot tlaku. Aby se eliminovala možnost většího tlakového nárůstu, je třeba zvolit přiměřenou velikost vzduchového prostoru. Nejvyšších hodnot tlaku u sledovaných matric dosáhly produkty hrášek a fazolky s náplní 75 %, tedy s největším headspace prostorem.

Poděkování: Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A1_FPBT_2021_004.

Literatura

- [1] Awuah, G. B.; Ramaswamy, H. S.; Economides, A. Thermal processing and quality: Principles and overview. *Chem. Eng. Process.* 2007, 46 (6), 584–602.
- [2] Kyzlink, V. *Základy konzervace potravin*, 2nd ed.; SNTL: Praha, 1980.
- [3] Holdsworth, S. D.; Simpson, R. *Thermal Processing of Packaged Food*, 3rd ed.; Springer, 2016.
- [4] Kadlec, P.; Melzoch, K.; Voldřich, M.; et al. *Procesy a zařízení v potravinářství a*

biotechnologiích; Key publishing s.r.o.: Ostrava, 2013.

- [5] Feretti, S. Load type and process/autoclave selection, 2017. PDA: The Israel Chapter of PDA. <http://www.pdaisrael.co.il/131117/PDA%20Fedegari%20Sara%20Ferretti%20AutoClave%20Selection.pdf> (accessed December 22, 2021).
- [6] Zhang, J.; Mannheim, C. H.; Zheng, C. Prediction of overpressure required for seal integrity during sterilization of semi-rigid food and drug packages. *Packag. Technol. Sci.* 1992, 5 (5), 271–280.
- [7] Teixeira, A. A.; Tucker, G. S. On-line retort control in thermal sterilization of canned foods. *Food Control* 1997, 8 (1), 13–20.
- [8] Joseph, S. J.; Speers, R. A.; Pillay, V. Effect of Head Space Variation and Heat Treatment On the Thermal and Rheological Properties of Nonagitated, Conduction-Heated Materials. *LWT - Food Sci. Technol.* 1996, 29, 556–560.
- [9] Ghai, G.; Teixeira, A. A.; Welt, B. A.; Goodrich-Schneider, R.; Yang, W.; Almonacid, S. Measuring and predicting head space pressure during retorting of thermally processed foods. *J. Food Sci.* 2011, 76 (3), 298–308.
- [10] Vyhláška č. 69/2016 Sb. o požadavcích na maso, masné výrobky, produkty rybolovu a akvakultury a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich. Sbírka zákonů 2016, částka 26.

Kontaktní adresa:

bauerj@vscht.cz

P2

Využití radiofrekvenčního ohřevu při ošetření sušených potravin

Using of radio frequency heating in the dried foods treatment

Beňo Filip, Kuncová Gabriela, Horsáková Iveta, Václav Pohůnek, Ševčík Rudolf

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

Souhrn

Radiofrekvenční ohřev (RF) je slibnou technologií pro potravinářské aplikace, a to díky rychlému a rovnoměrnému rozložení tepla, velké hloubce průniku a nižší spotřebě energie. Vysokofrekvenční ohřev byl úspěšně aplikován pro sušení, pečení a rozmrazování zmrazeného masa a při zpracování masa. Během RF ohřevu vzniká ve výrobku teplo v důsledku molekulárního tření, které je výsledkem kmitajících molekul a iontů způsobených aplikovaným střídavým elektrickým polem. RF ohřev je ovlivněn především dielektrickými vlastnostmi výrobku. Během RF zpracování jsou dielektrické materiály umístěny ve střídavém elektrickém poli. RF energie je generována triodovým ventilem a aplikována do potravin prostřednictvím páru elektrod. Dielektrická tepelná energie je generována v potravinách molekulárním třením, jak se střídají vysokofrekvenční elektrická pole. Na rozdíl od konvenčního ohřevu je dielektrický ohřev rychlý a působí v celém objemu ohřívané potraviny. V rámci této studie byl testován vliv ošetření sušené cibule pomocí RF. U vzorků byly testovány změny barvy (spektrofotometrie), aktivity vody (měření rosného bodu), sušiny (gravimetrie) a dále byly vzorky podrobeny mikrobiologické analýze (celkový počet mikroorganismů, kvasinky a plísně). V rámci testování byl sledován vliv ošetření pomocí RF u vzorků balené a volně ložené sušené cibule.

Klíčová slova: radiofrekvenční ohřev, sušení, mikrobiologie, barva, konzervace

Summary

Radio frequency heating (RF) is a promising technology for food applications, due to the rapid and uniform distribution of heat, high penetration depth and lower energy consumption. High-frequency heating has been successfully applied to the drying, baking, and thawing of frozen meat and to the processing of meat. During RF heating, the heat is generated in the product as a result of molecular friction resulting from oscillating molecules and ions caused by the applied alternating electric field. RF heating is mainly influenced by the dielectric properties of the product. During RF processing, dielectric materials are placed in an alternating electric field. RF energy is generated by a triode valve and applied to food via a pair of electrodes. The dielectric heat energy is generated in food by molecular friction as high-frequency electric fields are alternate. Unlike conventional heating, dielectric heating is rapid and voluminous. As a part of this study,

the influence of RF heating on the treatment of dried onions was tested. The samples were tested for colour change (spectrophotometry), water activity (measured dew point), dry matter (gravimetry), and microbiological analysis (total plate count, yeasts, and molds). The influence of RF treatment on packed and bulk samples of dried onions was tested.

Keywords: *radio frequency heating, drying, microbiology, colour, preservation*

Úvod do problematiky

RF ohřev neboli kapacitní dielektrický ohřev je moderní technologií, která je založena na principech elektrotechnologií, to znamená na ohmickém ohřevu, radiačním nebo mikrovlnném dielektrickém ohřevu, indukčních/ohmických kombinací, indukčním ohřevu a radiačním/magnetickém ohřevu. Rádiové frekvenční pásmo elektromagnetického spektra pokrývá široký rozsah vysokých frekvencí, typicky buď v rozsahu kHz ($3 \text{ kHz} < f \leq 1 \text{ MHz}$), nebo v rozsahu MHz ($1 \text{ MHz} < f \leq 300 \text{ MHz}$). Naproti tomu mikrovlny, které jsou svým ohřevným chováním do jisté míry podobné rádiovým vlnám, mají dále vyšší frekvenční rozsah, mezi 300 MHz a 300 GHz. Na rozdíl od konvenčních systémů, kde se tepelná energie přenáší z horkého média do chladnějšího výrobku (což vede k velkým teplotním gradientům), zahrnuje RF ohřev přenos elektromagnetické energie přímo do výrobku, čímž se potravina zahřívá v celém svém objemu v důsledku tření mezi molekulami (tj. teplo vzniká uvnitř výrobku). V různých metodách dielektrického ohřevu je důležité rozpoznat interakci mezi elektromagnetickým polem na příslušné frekvenci a materiálem, který je vystaven energii. RF ohřev je také znám také jako vysokofrekvenční dielektrický ohřev. Během RF ohřevu tvoří ohříváný výrobek „dielektrikum“ mezi dvěma kovovými deskami kondenzátoru, které jsou střídavě nabity kladně a záporně vysokofrekvenčním střídavým elektrickým polem. Polární molekuly, jako je voda, se snaží srovnat s polaritou elektrického pole. Jelikož se polarita rychle mění (při 27 MHz, 27 milionkrát za sekundu), snaží se molekuly plynule vyrovnat s elektrickým polem pohybem zvaným „flip-flop“. Výsledná kinetická energie a tření způsobené srážkou sousedních molekul vytváří teplo uvnitř produktu.

Možnosti využití RF v potravinářství

Pečení v pekárenství

Elektromagnetické vlny se používají v mnoha průmyslových procesech k sušení, ohřívání a dalším způsobům tepelného ošetření pro produkci široké škály výrobků. Na rozdíl od konvenčních topných systémů, elektromagnetické vlny jsou „přímé“ topné systémy v tom smyslu, že generují teplo přímo uvnitř produktu (rádio frekvence a mikrovlnný systém) nebo na jejich vnějších vrstvách pomocí infračerveného ohřevu. Pomocí disipačního mechanismu přeměněné elektromagnetické energie na teplo samotným produktem, v tomto případě chlebem. Metody přímého ohřevu jsou rychlé a z hlediska působení tepla na výrobek také velmi efektivní. Kvůli těmto výhodám byly elektromagnetické vlny studovány a využívány například při procesu pečení chleba již od poloviny šedesátých

let. Další jejich využití bylo oproti konvenčním procesům především z ekonomických důvodů.

Sušení v pekárenství

Během posledních několika let se ohřev pomocí vysokofrekvenčních technologií stává akceptovanou a spolehlivou technologií sušení pekárenských výrobků. Radiofrekvenční ohřev se osvědčil k dosoušení produktů po pečení u všech druhů a tvarů pekařských výrobků. Dokáže totiž přesně reagovat na zbytkový obsah vody v produktu, díky čemuž je zajištěna vysoká kvalita vyráběných produktů a zároveň je zvýšena produktivita výroby. Vysokofrekvenční energie eliminuje přebytek vlhkosti produktu rychle a efektivně, a to bez toho aniž by došlo k nadměrnému tepelnému namáhání povrchu výrobku (nadměrnému zhnědnutí povrchu produktů). Tento způsob tepelného ošetření je tedy možné využít k eliminaci výskytu akrylamidu v pekárenských produktech.

Pasterace a sterilace tekutých viskózních směsí

Potravinářský průmysl se dnes potýká s rostoucí zájmou spotřebitelů o přirozenou chuť a vůni produktů, funkční vlastnosti potravin a se stále přísnějším důrazem na bezpečnostní předpisy stanovené legislativou a klíčovými zákazníky. Aplikace vysokofrekvenčních polí jako technologie tepelného ošetření potravin dnes představuje skutečnou alternativu ke konvenčním tepelným metodám zpracování potravin. Tekutý nebo kašovitý produkt, který má být ošetřen, je kontinuálně čerpán skrz jednu nebo více teflonových trubek. Teflonové trubky jsou umístěny mezi elektrodami. Produkt je přímo ohříván RF polem, v kombinaci dielektrického a odporového ohřevu. Rychlost a uniformita ohřevu se pohybuje od 1 - 2 °C/s (pro vysoce viskózní kapaliny obsahující nerozpustěné látky) až 50 - 100 °C/s (pro kapaliny s nízkou viskozitou bez pevných částic). Působení tepla je díky této technologii rovnoměrné v celé části ošetřovaného produktu, což zvyšuje účinek tepelné inaktivace mikroorganismů, jejich spor a inaktivace nežádoucích enzymů. Hlavními výhodami oproti konvenčnímu tepelnému ošetření jsou rychlost a rovnoměrný nárůst teploty v celém objemu produktu a z tohoto důvodu zachování adekvátních senzorických, chemických a fyzikálních vlastností výrobku včetně integrity pevných částic.

Pasterace balených potravin

Průmyslové pasterizační zařízení na bázi radiofrekvenčního ohřevu balených produktů, jako jsou čerstvé těstoviny, noky, balené pečivo a další typy balených produktů, mohou tepelné ošetření provádět v několika fázích. Běžně se využívá zpracování ve 3 fázích: povrchové předeřtání obalu konvenčním teplem, rychlé zahřátí produktu pomocí RF na požadované MHz a sekce „udržení“ teploty konvenčním teplem. V ošetřovaném produktu dochází k rychlému a rovnoměrnému zahřátí a následné výdrži při dané teplotě potřebné k dosažení požadované úrovně snížení počtu mikroorganismů. Pracovní teploty se pohybují v rozmezí 76-82 °C. Proces pasterace v obalu obvykle netrvá déle než 10 až 20 minut podle povahy ošetřovaného produktu.

Materiál a metodika

V rámci této studie byl testován vliv RF na ošetření sušené cibule na zařízení STALAM S.p.A. U vzorků byly testovány změny barvy (spektrofotometrie), aktivity vody (měřeno rosného bodu), sušiny (gravimetrie) a dále byly vzorky podrobeny mikrobiologické analýze (celkový počet mikroorganismů, kvasinky a plísně). V rámci testování byl sledován vliv ošetření pomocí RF u vzorků balené a volně ložené sušené cibule.

Barva

Barevná změna vzorků sušené cibule před a po ošetření RF ohřevem byla stanovena měřením reflektance na spektrofotometru Minolta CM-5 a vyhodnocena v programu SpektraMagic NX Pro. Měření probíhalo při pokojové teplotě pod standardním úhlem pozorovatele 10° a se zdrojem světla D65 (denní světlo). Před začátkem byla provedena kalibrace přístroje na černou a bílou barvu. Barva vzorků byla měřena a vyhodnocena v barvovém prostoru CIE – $L^*a^*b^*$, kde:

L^* : (světlost) souřadnice mezi černou (0 %) a bílou (100 %)

a^* : souřadnice mezi červenou (kladné hodnoty) a zelenou (záporné hodnoty)

b^* : souřadnice mezi žlutou (kladné hodnoty) a modrou (záporné hodnoty)

Aktivita vody

Aktivita vody byla měřena na přístroji AquaLab 4TEV se senzorem rosného bodu a přesností měření $\pm 0,003$. Před měřením byly jednotlivé vzorky temperovány na laboratorní teplotu.

Sušina

Před stanovením sušiny byly vzorky homogenizovány v nožovém mlýnku Grindomix GM 200 při 4 000 otáčkách za minutu po dobu 10 sekund. Od každého zhomogenizovaného vzorku bylo naváženo 5 g a převedeno do hliníkových misek s víčkem a skleněnou tyčinkou, které byly předem umyty, zváženy, označeny a vysušeny v sušárně při 105 °C. Poté bylo přidáno přibližně 15 g předsušeného mořského praného písku a celá směs byla důkladně promíchána skleněnou tyčinkou. Kelímky s tyčinkou byly vloženy do sušárny a sušeny do konstantní hmotnosti při 105 °C (minimálně však 3 hodiny). Po vysušení byly vzorky vloženy do exsikátoru a přiklopeny víčkem, aby nedošlo k adsorpci vzdušné vlhkosti, zchlazeny na laboratorní teplotu a zváženy.

Mikrobiologická analýza

Pro zhodnocení mikrobiální kontaminace sušené cibule před a po RF ošetření byly vybrány: ČSN EN ISO 4833 – Stanovení celkového počtu mikroorganismů kultivací a ČSN ISO 21527-1,2 – Stanovení počtu kvasinek a plísní kultivací.

Výsledky a diskuze

V rámci této studie bylo testováno ošetření pomocí RF u sušené cibule, a to ve dvou sadách: 1. sada – 5kg pytle/volně sypané (**Obrázek 1**); 2. sada – 25kg pytle (**Obrázek 2**). V **tabulkách 2 a 3** jsou uvedeny výsledky fyzikálně chemických parametrů sušené cibule bez/s ošetřením pomocí RF při různých konečných teplotách.

Během prvního pokusu s 5kg pytlí (či volně ložené) je možné v **tabulce 2** vidět, že po ošetření RF došlo ve všech případech jak ke snížení hodnoty aktivity vody, tak i ke snížení obsahu vody ve srovnání s kontrolním vstupním vzorkem. V případě volně sypané cibule byl tento pokles intenzivnější ve srovnání se zabalenou cibulí. Vlivem ošetření RF došlo také u balené i volně ložené sušené cibule k poklesu hodnoty L^* (světlost) následkem snížení obsahu vody a zvýšení parametrů a^* a b^* .

Při druhém pokusu bylo RF, odpovídajícím různým teplotám ošetření (**Tabulka 3**), využito na ošetření 25kg množství sušené cibule, zabalené či volně sypané. Ve většině případů ošetření došlo ke zvýšení hodnoty aktivity vody kromě vzorků Test 1 a Test 5. Co se týká měření barvy sušené cibule, tak u vzorků Test 1, 2, 3, 4 a 6 byl zaznamenán výrazný pokles parametru L^* (světlost), v případě Test 4 se jednalo o 20 jednotek. Všechny tyto vzorky byly dále zhodnoceny jako senzoricky (vzhledově) nevyhovující (**Obrázek 3**). U těchto vzorků také došlo k výraznému navýšení parametrů a^* i b^* . Obsah sušiny v sušené cibuli v množství 25 kg se výrazně po ošetření RF nezměnil.

Výsledky mikrobiálních rozborů jsou uvedeny v **tabulce 1**. Na základě těchto výsledků lze konstatovat, že ošetření sušení cibule pomocí RF nemělo významný vliv na snížení celkového počtu mikroorganismů ani u jednoho z pokusů. Pozitivní vliv mělo ošetření RF na výskyt plísní a kvasinek, a to zejména při ošetření 25kg pytlů.

Tabulka 2: Mikrobiální rozbor sušené cibule

5kg množství – pytle/volně sypané			
PRODUKT		Celkový počet mikroorganismů [KTJ/g]	Kvasinky a plísňe [KTJ/g]
PN	Produkt neošetřený	$5,9 \cdot 10^4$	$2,4 \cdot 10^3$
Test 1	Ve vaku 90-95 °C	$5,9 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^2$
Test 2	Ve vaku 80-85 °C	$2,8 \cdot 10^4$	$8,0 \cdot 10^1$
Test 3	Ve vaku 70-75 °C	$4,4 \cdot 10^4$	$1,4 \cdot 10^3$
Test 5	Volně sypané 80-85 °C	$7,2 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^3$
Test 4	Volně sypané 90-95 °C	$6,4 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^3$
Test 6	Volně sypané 100-105 °C	$4,8 \cdot 10^4$	$4,0 \cdot 10^2$
25kg množství – pytle			
PN	Produkt neošetřený	$3,7 \cdot 10^3$	$1,6 \cdot 10^2$
Test 1	RF čas: 20 ' Konečná teplota (20'RF): 70-95 °C	$2,7 \cdot 10^3$	$<10^1$
Test 2	RF čas: 20 ' Konečná teplota (20'RF): 70-90 °C	$3,3 \cdot 10^3$	$4,6 \cdot 10^1$
Test 3	RF čas: 18' Konečná teplota (18'RF): 75-90 °C	$2,0 \cdot 10^3$	$<10^1$
Test 4	RF čas: 28' Konečná teplota (28'RF): 75-85 °C	$2,2 \cdot 10^3$	$<10^1$
Test 5	RF čas: 22' Konečná teplota (22 'RF): 50-90 °C poté až 115 °C během několika sekund	$6,7 \cdot 10^2$	$<10^1$
Test 6	RF čas: 16' Konečná teplota (16'RF): 65-85 °C	$4,7 \cdot 10^2$	$<10^1$
Test 7	RF čas: 17' Konečná teplota (17'RF): 65-85 °C	$5,4 \cdot 10^2$	$7,5 \cdot 10^1$

Tabulka 3: Fyzikálně chemické parametry sušené cibule (5kg množství – pytle/volně sypané)

		Barva								Sušina [%]	RSD
PRODUKT		a _w [-]	SD	L* [-]	L*RSD	a* [-]	a*RSD	b* [-]	b*RSD		
PN	Produkt neošetřený	0,3582	0,0006	81,00	0,287	1,18	0,001	22,15	0,020	9,91	0,016
Test 1	Ve vaku 90-95 °C	0,3668	0,0033	76,52	0,097	3,99	0,001	25,18	0,015	9,80	0,001
Test 2	Ve vaku 80-85 °C	0,3712	0,0012	77,70	0,119	3,44	0,005	25,46	0,078	9,67	0,014
Test 3	Ve vaku 70-75 °C	0,3568	0,0010	80,38	0,148	1,73	0,003	22,83	0,075	9,69	0,017
Test 5	Volně sypané 80-85 °C	0,2685	0,0003	80,30	0,223	1,81	0,005	23,63	0,077	7,85	0,001
Test 4	Volně sypané 90-95 °C	0,2437	0,0016	79,11	0,598	2,86	0,015	25,41	0,048	5,87	0,010
Test 6	Volně sypané 100-105 °C	0,1935	0,0055	71,67	0,159	6,20	0,006	26,70	0,075	5,60	0,004

Tabulka 4: Fyzikálně chemické parametry sušené cibule (25kg množství – pytle)

		Barva								Sušina [%]	RSD
PRODUKT		a _w [-]	SD	L* [-]	L*RSD	a* [-]	a*RSD	b* [-]	b*RSD		
PN	Produkt neošetřený	0,370	0,0011	76,88	0,516	2,63	0,275	19,32	0,679	12,36	0,018
Test 1	RF čas: 20' Konečná teplota (20'RF): 70-95 °C	0,362	0,0013	63,12	0,458	7,72	0,156	20,84	0,074	11,24	0,025
Test 2	RF čas: 20' Konečná teplota (20'RF): 70-90 °C	0,394	0,0017	64,03	1,372	7,06	0,498	20,31	0,142	12,21	0,009
Test 3	RF čas: 18' Konečná teplota (18'RF): 75-90 °C	0,415	0,0011	62,44	0,177	7,74	0,153	22,12	0,114	12,58	0,017
Test 4	RF čas: 28' Konečná teplota (28'RF): 75-85 °C	0,404	0,0042	46,89	0,764	5,86	0,186	11,01	0,632	11,41	0,008
Test 5	RF čas: 22' Konečná teplota (22 'RF): 50-90 °C poté až 115 °C během několika s	0,360	0,0007	77,98	0,336	3,44	0,169	25,48	0,256	11,83	0,011
Test 6	RF čas: 16' Konečná teplota (16'RF): 65-85 °C	0,377	0,0017	65,77	0,786	7,18	0,222	22,98	0,381	11,67	0,015
Test 7	RF čas: 17' Konečná teplota (17'RF): 65-85 °C	0,420	0,0005	74,02	0,269	4,08	0,059	23,32	0,064	13,41	0,004



Obrázek 1: Zabalená a volně sypaná sušená cibule před RF ošetřením (5 kg)



Obrázek 2: Zabalená sušená cibule před a při RF ošetření (25 kg)



Obrázek 3: Pokus č. 2 – ošetření zabalené sušené cibule

Závěr:

Radiofrekvenční ohřev patří k novým alternativním metodám sloužícím ke stabilizaci potravin. Testování ošetření na sušené cibuli ověřilo využití radiofrekvenčního ohřevu ke snížení počtu kvasinek a plísní v produktech s nízkou vlhkostí. Jednalo se o snížení o 1 až 2 řády KTJ/g. Vliv radiofrekvenčního ohřevu byl pozorován také u fyzikálně chemických parametrů sušené cibule, a to zejména u barvy, resp. světlosti L^* . V případě

radiofrekvenčního ohřevu se jedná se o novou alternativu k ošetření běžnými způsoby koření nebo sušených produktů, které jsou nyní ošetřovány parou či ionizujícím zářením.

Literatura:

Altemimi A, Aziz SN, Al-Hilphy ARS, Lakhssassi N, Watson DG, Ibrahim SA. Critical review of radio-frequency (RF) heating applications in food processing. *Food Quality and Safety*, **2019**, 3(2):81-91.

Guo C, Mujumdar AS, Zhang M. New Development in Radio Frequency Heating for Fresh Food Processing: a Review. *Food Engineering Reviews*, **2019**, 11:29-43.

Jiao S, Johnson JA, Tang J, Tiwari G, Wang S. Dielectric properties of cowpea weevil, black-eyed peas and mung beans with respect to the development of radio frequency heat treatments. *Biosystems Engineering*, **2001**, 108(3): 280–291.

Piyasena P., Dussault Ch., Koutchma T., Ramaswamy HS, Awuah GB. Radio Frequency Heating of Foods: Principles, Applications and Related Properties – A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **2003**, 43(6):587-606.

Rowley AT. Radio frequency heating. In: Richardson, P. S., ed. *Thermal Technologies in Food Processing*. **2001**, Woodhead Publishing, Cambridge, UK, pp. 163–177.

Poděkování: Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A1_FPBT_2021_004. Děkujeme za ošetření vzorků sušené cibule pomocí RF ohřevu na zařízení STALAM S.p.A, které zprostředkovala společnost FIMEX a.s.

Kontaktní adresa: Ing. Beňo Filip, VŠCHT Praha, Ústav konzervace potravin, FPBT, Technická 166 28, Praha 6 Dejvice, filip.beno@vscht.cz

Zmierňovanie potravinových podvodov: strategické prístupy a nástroje

Food fraud mitigation: strategic approaches and tools

Jozef Čapla, Peter Zajác, Jozef Golian, Jozef Čurlej, Lucia Benešová, Silvia Jakabová, Ľubomír Belej

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Fakulta biotechnológie
a potravinárstva, Ústav potravinárstva Tr. A. Hlinku 2, 949 72 Nitra,
Slovenská republika

Abstrakt:

Zabezpečenie integrity potravín bolo v histórii výzvou. Metódy falšovania a samotné falšovanie sa vyvinuli na základe tlakov na trhu, ako je dostupnosť zásob a cien, a tiež na základe vývoja metód detekcie. Za posledných 10 rokov vstúpili v USA a EÚ do platnosti nové nariadenia zamerané na prevenciu potravinových podvodov. Čiastočne ich podnietili dva známe prípady podvodov s potravinami, konkrétne falšovanie mlieka melamínom v Číne a falšovanie hovädzieho mäsa konským mäsom v EÚ. Začlenenie stratégií špecifických pre predchádzanie podvodom je pre priemysel a kontrolné orgány stále relatívne nové. Legislatívne požiadavky sú však v platnosti už niekoľko rokov a tak kontrolné orgány pokračujú vo vývoji svojich stratégií na hodnotenie súladu s týmito požiadavkami. Veľké potravinárske spoločnosti majú vyvinuté a prispôsobené systémy riadenia na vyhodnotenie rizika podvodu a implementáciu plánov na zmiernenie.

Abstract:

Ensuring food integrity has been a challenge throughout history. Adulteration methods and adulterants themselves have evolved based on marketplace pressures, such as the availability of supplies and prices, and also based on the evolution of detection methods. Over the past 10 years, new regulations have come into effect in the United States and the EU focused on prevention of food fraud. These were prompted in part by two high-profile incidents of food fraud, specifically melamine adulteration of milk in China and horsemeat adulteration of beef in the EU. The incorporation of strategies specific to fraud prevention is still relatively new to industry and regulators. However, the requirements have now been in place for a number of years, and both regulatory investigators and auditing bodies continue to develop their strategies for assessing compliance with these requirements. Large companies may have, by now, developed customized corporate-managed systems for evaluating fraud risk and implementing mitigation plans.

Keyword: *food fraud mitigation, food authenticity*

ÚVOD

Analytické detekčné stratégie sú dôležitou súčasťou programu prevencie potravinových podvodov a môžu potvrdiť to, čo sa o zložkách potravín uvádza v príslušnej dokumentácii (Barrere et al., 2020).

Jednou z výziev analytických detekčných stratégií je, že počet potenciálnych falšovateľov má tendenciu časom narastať. Ak potenciálny falšovateľ nie je známy

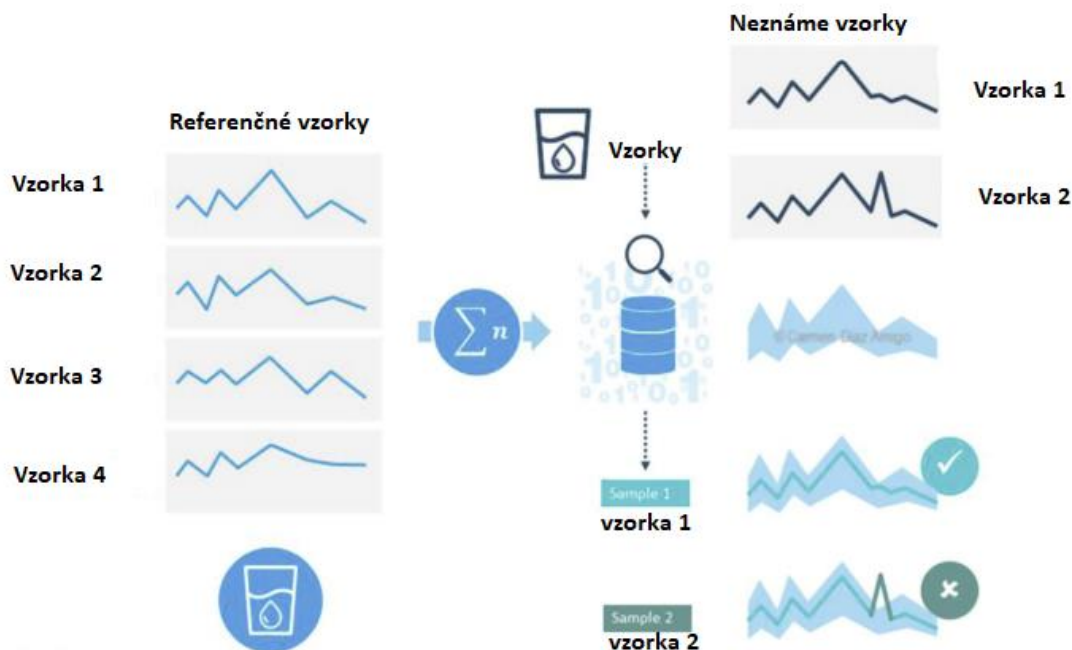
vopred, môže sa vykonať množstvo analýz vzoriek, aby sa zistilo, či bol výrobok falšovaný (Everstine et al., 2018).



Obr. 1 Počet zdokumentovaných prípadov falšovania pre výber bežne falšovaných potravinových produktov (Databáza potravinových podvodov Decernis. 2021).

Individuálna analýza každého možného falšovania potravín zvyčajne nie je ekonomicky uskutočniteľná. Vyvinutá bola preto nová stratégia na odhalenie viacerých potenciálnych falzifikátov v jedinej analýze: takzvané necielené metódy. Zatiaľ čo cieľové metódy hľadajú špecificky jeden alebo malý počet možných analytov (falzifikátov), necielené metódy hodnotia, či profil neznámej vzorky zodpovedá referenčnému profilu pre konkrétny produkt. Aj keď takýto postup nemusí byť schopný priamo identifikovať všetky falšované látky, tieto typy metód sú schopné identifikovať, či môže dôjsť k falšovaniu dokonca aj v prípade predtým neznámych falšovateľov. Ako takáto necieľová metóda funguje? Najprv je potrebné stanoviť referenčný profil materiálu (napr. olivového oleja). Je potrebné vziať do úvahy variabilitu spôsobenú sezónnymi zmenami, odrodami olív a rôznymi oblasťami pestovania, čo znamená, že je potrebné získať overené autentické vzorky zo širokej škály regiónov a výrobných prostredí, aby sa tieto variability primerane zachytili. Tieto vzorky sa potom analyzujú pomocou necieľovej skriningovej metódy. Chemometria (štatistické metódy) sa potom používa na odvodenie spoločného profilu, ktorý je typický pre materiál. Budúce neznáme vzorky potom môžu byť testované rovnakou metódou a hodnotené oproti overenému profilu založenému na autentických referenčných vzorkách. Ak sa profil neznámej vzorky zhoduje s profilom referenčnej vzorky, možno ju považovať za nefalšovanú. Ak sa profil vzorky líši od profilu referenčných vzoriek, vyžaduje si to ďalšie skúmanie (ktoré zvyčajne zahŕňa použitie cieľových metód) (pozri obr. 2). Necielené metódy sú vhodné na skrining veľkého počtu vzoriek. Treba poznamenať, že žiadna skriningová metóda v súčasnosti nedokáže identifikovať všetky možné falšovania. Preto sa na vyhodnotenie odporúča použiť kombináciu necieľových skriningových metód (ako je kombinácia blízkej infračervenej spektroskopie a kvapalinovej chromatografie spojenej s dvojrozmernou hmotnostnou spektrometriou a/alebo metódami nukleárnej magnetickej rezonancie). Predpovedná sila a kvalita ktorejkoľvek z týchto metód bude vo veľkej miere závisieť od kvality a počtu referenčných vzoriek, ako aj od toho, do akej miery sú reprezentatívne pre danú komoditu. S cieľom poskytnúť informácie o vývoji a validácii necieľových metód Expertný panel pre falšovanie potravín falšovanie potravinového kódexu (FCC) zverejnil usmerňujúci dokument (Xie et al., 2019) a AOAC International

v súčasnosti vyvíja požiadavky na výkon štandardných metód, proti ktorým by ciele metódy mali byť vyhodnotené (AOAC International, 2021). Zatiaľ čo vývoj v analytickej oblasti je kľúčový, ani výsledovateľnosť, ani samotné metódy odhaľovania nepomôžu riešiť potravinové podvody. Účinný program prevencie potravinových podvodov si vyžaduje holistický prístup, ktorý kombinuje procesy hodnotenia zraniteľnosti, zmierňujúce opatrenia, vylepšené nástroje sledovateľnosti a strategickú aplikáciu detekčných metód s cieľom výrazne znížiť výskyt a potenciál potravinových podvodov.



Obr. 2 Princíp necielenej detekcie pomocou profilov referenčných vzoriek

Údaje a nástroje na podporu analýz nebezpečenstva a hodnotenia zraniteľnosti potravinových podvodov

Zdroje údajov

Informácie relevantné pre riziko potravinovej bezpečnosti a konkrétnejšie riziko potravinového podvodu sú dostupné z rôznych zdrojov. Ako už bolo spomenuté, FDA navrhuje, aby analýza nebezpečenstiev zahŕňala prehľad údajov o prepuknutí ochorení prenášaných potravinami, stiahnutia z trhu, zdroje z vedeckej literatúry a skúseností a historické informácie uchovávané v konkrétnom zariadení. GFSI CPO odporúčajú rôzne potenciálne užitočné zdroje údajov na podporu FFVA, vrátane databáz založených na predplatnom, vládnych a univerzitných webových stránok, blogov a mediálnych publikácií, obchodných a výskumných združení, vytvárania sietí, informácií z testovacích laboratórií a opatrení krajiny (BRC, 2017; International Featured Standards, 2018).

Jednou z výziev súvisiacich so získavaním údajov relevantných pre riziko potravinových podvodov je skutočnosť, že často sa používajú materiály alebo látky, ktoré nie sú nebezpečné a nemajú krátkodobé a identifikovateľné účinky na zdravie. To sťažuje pochopenie skutočného rozsahu potravinových podvodov. Zvyšuje sa tým aj náročnosť identifikácie nových foriem potravinových podvodov zahŕňajúcich neočakávané falšovanie. Prehľad známych výskytov podvodov, stiahnutí z trhu a publikácií od médií, obchodných a výskumných združení je cenný na pochopenie histórie podvodov a na identifikáciu zložiek a produktov s preukázaným vzorom falšovania. Aby boli vyhľadávanie podvodov proaktívnejšie, mnohé organizácie odporúčajú kontrolovať údaje, ktoré pomáhajú identifikovať nové problémy, ktoré by mohli viesť k zvýšeniu stimulov pre podvody. Sem môžeme zaradiť prehľad ekonomiky konkrétnej zložky alebo

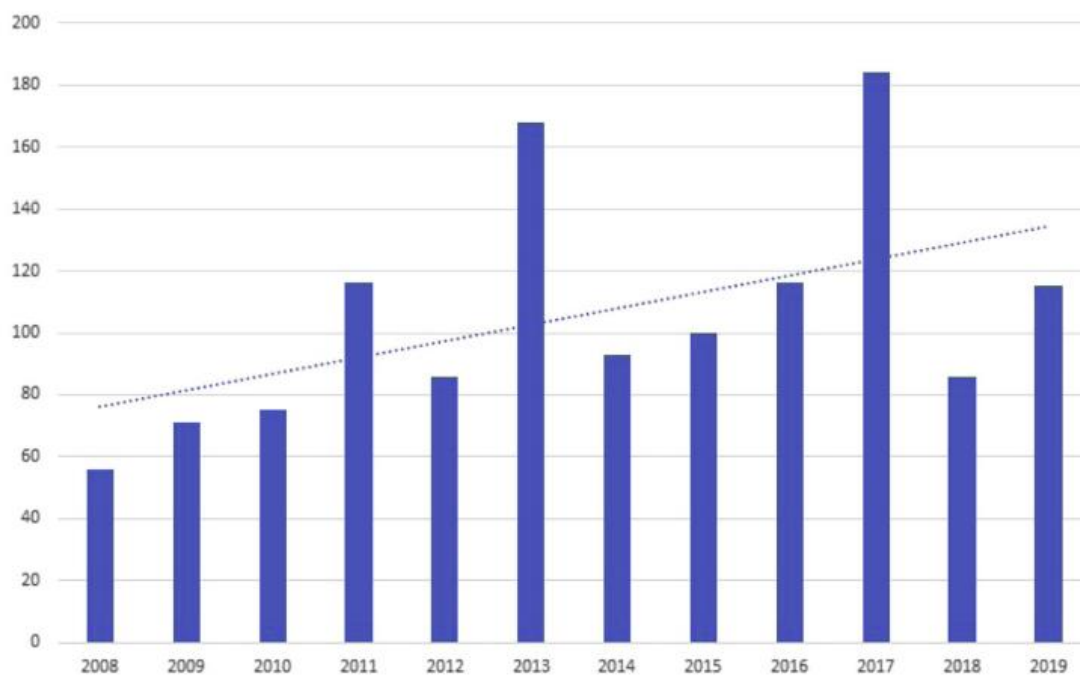
komodity (a/alebo všeobecného trhu), sledovanie geopolitickej situácie v zdrojových krajinách pre zložky a spravodajské informácie získané prostredníctvom profesionálnych sietí.

Rovnako ako pri dohľade nad ochoreniami prenášanými potravinami, aj v systémoch dohľadu a podávania správ o potravinových podvodoch existuje veľká variabilita. V súčasnosti neexistuje žiadna štandardizovaná klasifikačná schéma pre atribúty, ako sú typy správ, názvy prísad a falzifikátov a typy podvodov (alebo „metódy“ podvodov). Lokalizované mediálne správy môže byť ťažké alebo nemožné overiť, ale je tiež dôležité ich preskúmať, aby sa mohli sledovať možné vznikajúce problémy. Hlavné zdroje údajov pre potravinové podvody uvádzame vo zvyšku článku.

Systém rýchleho varovania EÚ pre potraviny a krmivá (RASFF)

RASFF je verejná databáza, ktorá zhromažďuje a poskytuje prehľadateľné oznámenia od príslušných orgánov členských štátov EÚ o nedodržiavaní zákonov o potravinách alebo krmivách (Európska komisia, 2017). Oznámenia RASFF týkajúce sa „falšovania/podvodu“ vykazovali v posledných rokoch rastúci trend (ako je znázornené na grafe č.1).

RASFF notifikácie za každý rok



Graf č.1 Počet oznámení za rok pre kategóriu „falšovanie/podvod“ v systéme rýchleho varovania EÚ pre potraviny a krmivá (RASFF, 2020)

RASFF je užitočný na sledovanie oficiálnych oznámení o nesúlade a ako taký je kritickou súčasťou programu bezpečnosti potravín. Je však dôležité poznamenať, že systém zostavuje správy bez ďalšieho upravovania. Absencia opatrení na kontrolu kvality pre kategorizáciu údajov môže viesť k nekonzistentným záznamom, najmä v prípade problémov, ktoré môžu súvisieť s podvodom.

Databáza potravinových podvodov Decernis

Databáza potravinových podvodov je online zdrojom informácií o verejnej dokumentácii prípadov potravinových podvodov a iných správach, ktoré informujú o riziku potravinového podvodu. Databáza bola pôvodne vyvinutá v spolupráci s panelom

odborníkov z vlád, priemyslu a akademickej obce. Teraz je to nástroj založený na predplatnom, ktorý spravuje Decernis/FoodChain ID (Decernis, n. d., 2021). Databáza sleduje a štandardizuje historické záznamy o potravinových podvodoch, ktoré pochádzajú z verejných zdrojov údajov, ako sú napríklad recenzované publikácie, správy z médií, regulačné zdroje a právne dokumenty. Informácie sú spravované a štandardizované a hlásené ako štyri typy záznamov: incidenty, odvodené záznamy, záznamy sledovania a analytické metódy.

Inštitút ochrany a obrany potravín - Register incidentov falšovania potravín

Register incidentov falšovania potravín je ďalším online zdrojom údajov o historických záznamoch o falšovaní potravín, ktoré vedie Inštitút ochrany a obrany potravín na Univerzite v Minnesote (Inštitút ochrany a obrany potravín, 2018). Databáza obsahuje údaje o incidentoch falšovania potravín vrátane terorizmu, sabotáže a podvodných ekonomických ziskov z verejných zdrojov. Je to nástroj založený na predplatnom; záznamy staršie ako 5 rokov sú k dispozícii bezplatne.

HorizonScan

HorizonScan je kompilácia potravinových upozornení od vládnych agentúr doplnená o ďalšie informácie z mediálnych správ, ktorú vyvinula spoločnosť Fera Science v Spojenom kráľovstve (FERA, n.d., 2021). Je to služba založená na predplatnom, ktorá zostavuje upozornenia od vlád po celom svete, vrátane stiahnutia z trhu a iných kontrol súvisiacich s bezpečnosťou potravín a potravinovými podvodmi. Obsahuje aj informácie o názvoch dodávateľov a ohlasujúcej organizácii.

Agroknow FOODAKAI

FoodAkai je ďalšou službou, ktorá zhromažďuje upozornenia o nebezpečenstvách bezpečnosti potravín publikované vnútroštátnymi orgánmi (Agroknow, n. d., 2021). Služba zahŕňa posúdenie úrovne rizika na základe počtu stiahnutí z trhu a závažnosti nebezpečenstva, ako aj možnosť sledovať konkrétne mená dodávateľov.

DigiComply

DigiComply je služba, ktorá poskytuje globálne regulačné informácie a môže slúžiť ako nástroj na skenovanie horizontu prostredníctvom vytvárania upozornení na problémy týkajúce sa konkrétnych zložiek alebo skupín produktov (SGS, n.d., 2021). Údaje sa zhromažďujú z mnohých zdrojov, vrátane regulačných dokumentov, odborných časopisov a novinových správ, a informácie sa pred vložením do systému overujú. Systém má službu Food Fraud Watch, ktorá sleduje incidenty, ktoré sa špecificky týkajú podvodu a možno ich filtrovať podľa krajiny a zložky.

Odhady geopolitického rizika

Niektoré rámce hodnotenia zraniteľnosti odporúčajú začleniť odhad úrovne rizika alebo korupcie podľa oblasti pre krajiny, ktoré pestujú a spracovávajú suroviny pre potravinársky priemysel. Dva zdroje týchto informácií zahŕňajú amforskú klasifikáciu rizika krajiny (amfori, n. d., 2021) a index vnímania korupcie Transparency International (Transparency International, n. d., 2021). Zohľadňujú sa verejné, oficiálne a súkromne zdroje údajov (na základe predplatného) na podporu hodnotenia zraniteľnosti potravinového podvodu. Neexistuje dokonalý zdroj údajov, ktorý by informoval o riziku potravinového podvodu. Pri hodnotení zdrojov údajov je dôležité zvážiť mechanizmy zberu údajov, ktoré sú základom systému podávania správ. Napríklad regulačné orgány zvyčajne testujú len malý počet potravinových výrobkov, niekedy náhodne a niekedy

počas cieleného testovania. Tieto regulačné priority alebo stratégie je potrebné vziať do úvahy pri pohľade na vnímané „trendy“ údajov. Vybrané zdroje informácií o správach o potravinových podvodoch zvyčajne sledujú iba verejné údaje a ako také môžu predstavovať iba podmnožinu skutočného výskytu potravinových podvodov. Keďže podvody sú navrhnuté tak, aby sa nedali odhaliť, je pravdepodobné, že mnohé prípady podvodu sa nikdy neodhalia. Je však tiež pravdepodobné, že mnohé problémy s podvodmi, ktoré sa zistia v tomto odvetví, sa riešia súkromne a nikdy sa verejne neoznamujú. Chránené systémy na zdieľanie informácií sú preto rozhodujúce pre prevenciu potravinových podvodov.

V rámci komplexného hodnotenia zraniteľnosti je dôležité zvážiť širokú škálu informačných zdrojov. Osobná komunikácia a zhromažďovanie spravodajských informácií, ak sa berú v správnom kontexte a sú založené na neoverených informáciách, môžu tiež pomôcť udržať si náskok pred potenciálnymi vznikajúcimi problémami.

Nástroje a zdroje na usmernenie vývoja hodnotenia zraniteľnosti potravinových podvodov a plánov na zmiernenie

Usmerňovací dokument na posúdenie zraniteľnosti proti podvodom s potravinami a plán na zmiernenie

Na uľahčenie FFVA expertný výbor FCC pre potravinové prísady vyvinul Usmernenie na zmiernenie podvodov s potravinami (FFMG), ktoré je k dispozícii ako príloha k FCC (US Food, n.d., 2021). FFMG popisuje systematický a komplexný proces hodnotenia zraniteľnosti každej zložky používanej spoločnosťou a použitia tohto hodnotenia na vypracovanie stratégie zmiernenia. Hodnotenie zraniteľnosti zahŕňa hodnotenie deviatich prispievajúcich faktorov (zložitosť dodávateľského reťazca, stratégia auditu, dodávateľský vzťah, história regulácie a kvality dodávateľa, primeranosť testovacích metód, frekvencia testovania, geopolitické úvahy, história podvodov so zložkami a ekonomické anomálie), integráciou týchto hodnotení. Hodnotenie bolo navrhnuté tak, aby sa vykonávalo pre jednotlivé zložky; poskytuje jasný údaj o tom, kde by mala spoločnosť uprednostniť úsilie na zmiernenie podvodov, ako aj informácie o najefektívnejších prístupoch založených na hodnotení faktorov, ktoré prispievajú. V prípade spoločností, ktoré získavajú veľa zložiek, a preto môže byť pre nich ťažké vykonať hodnotenie každej jednotlivéj zložky, usmernenie obsahuje aj informácie o tom, ako uprednostniť zložky na úplné vyhodnotenie.

Nástroj na potravinové podvody SSAFE

Nástroj pre potravinové podvody SSAFE je online nástroj na hodnotenie zraniteľnosti, ktorý bol vyvinutý v spolupráci medzi SSAFE a Wageningen University (SSAFE Food Fraud Vulnerability Assessment Tool, 2021). Je k dispozícii zadarmo ako tabuľkový procesor na stiahnutie a obsahuje sériu 50 otázok zameraných na posúdenie motivácie a kontrolné opatrenia pre potravinové podvody. Nástroj nie je priamo prepojený so zdrojmi údajov na podporu hodnotenia, ale odporúča zdroje tam, kde je to vhodné. Otázky sú vyplnené pre jednotlivé zložky alebo skupiny zložiek. Vytvorenie tohto nástroja schválila rada GFSI.

Battelle EMAlert

EMAlert je online nástroj na analýzu rizík EMA, ktorý vyvinula spoločnosť Battelle v spolupráci s Asociáciou výrobcov potravín so sídlom v USA (teraz Asociácia spotrebiteľských značiek) (Battelle, n.d., 2021). Ide o online nástroj založený na predplatnom, ktorý umožňuje používateľom hodnotiť riziko EMA pre súbor komodít na

základe poznatkov používateľov a priamych odkazov na externé zdroje údajov. Nástroj v súčasnosti obsahuje 50 komodít.

Nástroje na hodnotenie zraniteľnosti poradcov pri potravinových podvodoch

Food Fraud Advisors vyvinuli dva predadsheety Excel (založené na poplatku) na stiahnutie na vykonanie interného hodnotenia zraniteľnosti; jeden je všeobecný formát a druhý je založený konkrétne na požiadavkách British Retail Consortium (Food Fraud Advisors, 2019). Môžu byť prispôbované prísadám, surovinám, obalovým materiálom a hotovým výrobkom a nevyžadujú použitie online systému.

Usmerňujúce dokumenty pre vlastníkov certifikačného programu uznané GFSI – najmä FSSC 22000 (2018) a Medzinárodné odporúčané štandardy (2018) – vytvorili usmerňovacie dokumenty, ktoré poskytujú priemyselnému odvetviu informácie na použitie pri vytváraní procesu FFVA. Hoci to nie sú nástroje ako také, popisujú faktory a/alebo procesy, ktoré možno použiť na implementáciu hodnotenia zraniteľnosti. Pre spoločnosti, ktoré majú záujem o vytvorenie prispôbeného systému, ktorý bude spĺňať požiadavky uznanou GFSI, môžu tieto dokumenty poskytnúť užitočný východiskový bod.

Sprievodca PremiumLab na predchádzanie podvodom v potravinárskom priemysle

Organizácia s názvom PremiumLab v Španielsku vydala príručku s podporou rôznych univerzít a Ministerstva poľnohospodárstva, chovu dobytka, rybolovu a výživy Generalitat de Catalunya (Fernandez Sans, 2018). Tento dokument bol navrhnutý ako adaptabilná príručka na vytvorenie systému kontroly podvodov, ktorý je kompatibilný s analýzou rizík a kritickými kontrolnými bodmi (HACCP). Zahŕňa príklady založené na terminológii HACCP (ako sú kritické body, kritické limity a dohľad) a vzorové tabuľky na sledovanie.

Usmernenie American Spice Trade Association – identifikácia a prevencia falšovania

Americká asociácia obchodu s korením (ASTA n.d., 2021) vypracovala dokument s usmerneniami zameranými na predchádzanie podvodom v odvetví korenia. Tento dokument obsahuje tabuľku typických časov zberu bylín a korenín podľa krajín, čo umožňuje zainteresovaným stranám predvídať načasovanie prerušenia dodávateľského reťazca na základe mimoriadnych udalostí.

ZÁVER

Od výrobcov potravín sa vyžaduje, aby zaviedli opatrenia na predchádzanie potravinovým podvodom, aby zabezpečili súlad s vládnyimi nariadeniami a súkromnými normami (na základe GFSI). Hoci neexistuje dokonalá stratégia na predpovedanie rizika potravinového podvodu, existujú rôzne nástroje a zdroje údajov na podporu hodnotenia potenciálnych zraniteľností v konkrétnych dodávateľských reťazcoch. Mnoho veľkých spoločností už vyvinulo vlastné systémy na hodnotenie zraniteľnosti a plány na zmiernenie rizika pod kontrolou spoločnosti. Menšie spoločnosti alebo spoločnosti s obmedzenými zdrojmi by mali byť schopné vykonať priame hodnotenie jednotlivých zložiek pomocou jedného zo spôsobov opísaných vyššie. Zatiaľ čo bezpečnosť potravín má prvoradý význam, je potrebné a zároveň možné zaviesť ciele a účinné kontroly potravinových podvodov s cieľom zvýšenia bezpečnosť potravín a riadenia rizika značky.

LITERATÚRA

1. Agroknow, n.d. FOODAKAI. 2021. Minimize food safety risks in your supply chain. Available at: <https://www.foodakai.com/> (accessed 05.01.21).
2. American Spice Trade Association, n.d. Identification and prevention of adulteration guidance document. 2021. Available at: <https://www.astaspice.org/food-safety/identification-prevention-adulteration-guidance-document/> (accessed 27.05.21).
3. amfori, n.d. Country risk classification 2021. Available at: <https://www.amfori.org/news/country-risk-classification-2020-now-available> (accessed 05.01.22).
4. AOAC International, n.d. Food authenticity methods. AOAC International. 2021. Available at: <https://www.aoac.org/scientificsolutions/food-authenticity-fraud/> (accessed 29.04.21).
5. Barrere, V., Everstine, K., The'olier, J., Godefroy, S., 2020. Food fraud vulnerability assessment: towards a global consensus on procedures to manage and mitigate food fraud. *Trends Food Sci. Technol*, p.100, 131137. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.04.002>.
6. Battelle, n.d. EMAAlert. 2021. Available at: <https://emalert.org/> (accessed 30.04.21).
7. BRC, 2017. Understanding vulnerability assessment. Available at: <https://www.brcgsbookshop.com/bookshop/global-standard-food-safety-issue-8-understanding-vulnerability-assessment/c-24/p-515>.
8. Decernis, n.d. Food fraud database. Decernis. 2021. Available at: <https://decernis.com/solutions/food-fraud-database/> (accessed 30.04.21).
9. RASFF food and feed safety alerts. Food Safety European Commission. 2021. Available at: https://ec.europa.eu/food/safety/rasff_en (accessed 28.04.21).
10. European Commission, 2017. The EU food fraud network. Food Safety European Commission. Available at: https://ec.europa.eu/food/safety/food-fraud/ffn_en (accessed 28.04.20).
11. European Commission, 2019. Food fraud summary month reports. Knowledge for Policy European Commission. https://ec.europa.eu/knowledge4policy/publication/food-fraud-summary-month-reports_en (accessed 28.04.21).
12. Everstine, K., Abt, E., McColl, D., Popping, B., Morrison-Rowe, S., Lane, R.W., et al., 2018. Development of a hazard classification scheme for substances used in the fraudulent adulteration of foods. *J. Food Prot.* 81, 3136. Available from: <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-173>.
13. FERA, n.d. HorizonScan. 2021. Available at: <https://horizon-scan.fera.co.uk/> (accessed 30.04.21).
14. Fernandez Sans, A., 2018. Guide to Preventing Fraud in the Food Industry, fifth ed., Available at: <http://agricultura.gencat.cat/web/.content/04-alimentacio/lluita-frau-alimentari/enllacos-documents/fitxers-binariis/guide-preventing-fraud-food-industry.pdf>
15. Food Fraud Advisors, 2019. Food Fraud Vulnerability Assessment Tools. Available at: <https://www.foodfraudadvisors.com/vulnerability-assessment-tools-food-fraud/> (accessed 05.01.20).

16. Food Protection and Defense Institute, 2018. Food adulteration incidents registry (FAIR). Food Protection and Defense Institute University of Minnesota. Available at: <https://foodprotection.umn.edu/tools-services/food-adulteration-incidents-registry-fair>. (accessed 30.04.20).
17. FSSC 22000, 2018. Guidance on food fraud mitigation. Government of Canada, C.F.I.A., 2016. Standards of identity for food. Available at: <https://www.inspection.gc.ca/food-label-requirements/labelling/industry/standards-of-identity-for-food/eng/1468511768544/1468511932838> (accessed 29.04.20).
18. Xie, K., Holroyd, S., Laurvick, K., Gendel, S., 2019. Checking what is not there. World Food Ingred.
19. International Featured Standards, 2018. IFS database NEW: IFS product fraud guideline. Available at: <https://www.ifs-certification.com/index.php/en/news/news-archiv/3856-news-ifs-product-fraud> (accessed 29.04.21).
20. SGS, n.d. SGS Digicomply. 2021. Available at: <https://www.sgs.com/en/agriculture-food/food/digital-solutions-for-food/sgsdigicomply>. (accessed 06.08.21).
21. SSAFE Food Fraud Vulnerability Assessment Tool. 2021. Available at <https://www.ssafefood.org/our-projects/>.
22. The Consumer Goods Forum and Global Food Safety Initiative. 2018. Tackling food fraud through food safety management systems. Transparency International, n.d. Research CPI Overview. Available at <https://www.transparency.org/research/cpi/overview> (accessed 05.01.21).
23. U.S. Food and Drug Administration, 2021. Current good manufacturing practice, hazard analysis, and risk-based preventive controls for human food. https://www.regulations.gov/document?D5_FDA-2011-N-0920-1979. (accessed 22.04.21).

Pod'akovanie:

"Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-17-0508 a APVV-19-0180“.

Kontaktná adresa: Ing. Jozef Čapla, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Science, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: jozef.capla@uniag.sk

**VYUŽITIE BIOKONZERVAČNÝCH LÁTOK PRI PRODUKCII
MLIEKA A MLIEČNYCH VÝROBKOV****USE OF BIOPRESERVATIVES IN DAIRY PRODUCTION****Čurlej, J. – Zajác, P.* – Čapla, J. – Golian, J.**

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Fakulta biotechnológie
a potravinárstva, Ústav potravinárstva Tr. A. Hlinku 2, 949 72 Nitra, Slovenská
republika

*Korešpondenčný autor: Peter Zajác, peter.zajac@uniag.sk

Abstrakt

Mliečne výrobky akými sú jogurty, syry, maslo, predstavujú významný zdroj esenciálnych látok pre človeka. Mlieko ako základná zložka týchto výrobkov je získavané v procese dojenia, kde môže byť sekundárne kontaminované mikroorganizmami. Uchovávanie mlieka pri chladiarenských teplotách 2 až 8 °C vytvára bariéru len pre rast niektorých druhov mikroorganizmov. Následný proces tepelného ošetrenia ako je pasterizácia alebo UHT ošetrenie sú považované za kritické kontrolné body v rámci systémov HACCP, ktoré sú špecificky určené na redukciiu alebo úplnú elimináciu mikroorganizmov zapríčiňujúcich proces kazenia. Okrem týchto zaužívaných metód je možné za účelom zvýšenia trvanlivosti mliečnych výrobkov využiť aj metódu biokonzervácie, ktorá využíva prirodzenú mikroflóru respektíve antimikrobiálne látky vznikajúce činnosťou tejto mikroflóry. Za týmto účelom je možné použiť iba vhodné druhy mikroorganizmov, ktoré svojou činnosťou kompetetívne regulujú nežiaducu mikroflóru vrátane patogénnej. Pre procesy biokonzervácie je možné uplatniť baktérie mliečneho kysnutia a ich metabolity. Okrem antimikrobiálnych vlastností vytvárajú charakteristické chuťové vlastnosti mliečnych výrobkov, v ktorých sa nachádzajú. Iné produkty baktérií mliečneho kysnutia, ako napríklad nizin, nachádzajú široké uplatnenie aj v ostatných odvetviach potravinárskeho priemyslu. Ďalšie metabolity, akými sú produkty enterokokov, bakteriofágov a prípadne endolyzíny nachádzajú uplatnenie ako biokonzervanty pri uchovávaní mlieka. Ich prednosťami sú dostupnosť, netoxičita a neimunogénnosť. V tejto štúdii sa zameriavame na prehľad možnosti využitia biokonzervačných látok v oblasti prevencie kazenia mlieka a mliečnych výrobkov.

Kľúčové slová: mlieko, bezpečnosť, biokonzervant

Abstract

Dairy products such as yoghurt, cheese, butter represent an important source of essential substances for humans. Milk as a basic component of these products is obtained in the milking process, where it can be secondarily contaminated by microorganisms. The storage of milk at refrigeration temperatures of 2 to 8 °C creates a barrier for the growth of only certain types of micro-organisms. Subsequent heat treatment processes such as pasteurisation or UHT treatment are considered critical control points within HACCP systems, which are specifically designed to reduce or completely eliminate spoilage micro-organisms. In addition to these established methods, bio-preservation, which uses natural microflora or antimicrobials produced by the activity of these microflora, can be used to increase the shelf life of dairy products. For this purpose, only suitable species of micro-organisms can be used which competitively regulate undesirable microflora,

including pathogenic microflora. Lactic acid bacteria and their metabolites may be used for bio-preservation processes. In addition to their antimicrobial properties, they produce the characteristic taste properties of the dairy products in which they are present. Other products of lactic acid bacteria, such as nisin, are also widely used in other sectors of the food industry. Other metabolites, such as products of enterococci, bacteriophages and possibly endolysins, find application as bio-preservatives in the preservation of milk. Their advantages are availability, non-toxicity and non-immunogenicity. In this article, we focus on the potential use of biopreservatives in the prevention of spoilage of milk and dairy products.

Keywords: milk, biopreservative, safety

Úvod

Zloženie surového mlieka sa po nadojení mení činnosťou mikroorganizmov a enzýmov. Z tohto dôvodu je nevyhnutné mlieko vychladiť na teplotu 2 – 8 °C (ak sa zväžá denne) alebo 2 – 6 °C (ak sa zväžá každý druhý deň) a prepravovať tak, aby nedošlo k zvýšeniu jeho teploty na viac ako 10 °C. Po 24 hodinách môže dochádzať v mlieku vplyvom lipolitickej aktivity lipázy k zníženiu obsahu tuku o -0.04 g/100g (Zajác et al., 2015). Na predĺženie trvanlivosti mlieka je nutné ho vychladiť a použiť konvenčné procesy ako sú pasterizácia, sterilizácia a dehydratácia. Okrem týchto konvenčných postupov je možné predĺžiť trvanlivosť mliečnych výrobkov metódou biokonzervácie pomocou rôznych mikroorganizmov.

Mikroorganizmy premieňajú mlieko na iné formy mliečnych výrobkov a zároveň vo svojej podstate prispievajú ku kontrole rastu mikroorganizmov spôsobujúcich kazenie, čím predlžujú trvanlivosť takto vyrobených mliečnych výrobkov (Thorning et al., 2016). V potravinárstve je využívaných viacero zložiek s prospešnými vlastnosťami na organizmus konzumenta, medzi ktoré patria aj rôzne druhy baktérií. Prospešné baktérie sa vyskytujú predovšetkým vo fermentovaných mliečnych výrobkoch (Hickey et al., 2015). Baktérie spájané s fermentáciou mlieka dokážu rásť v širokom teplotnom rozsahu od 4 do 50 °C. Mezofilné baktérie rastú v rozpätí 25 – 35 °C, termofilné v intervale 37 – 45 °C. Parametre, akými sú teplota, pH, či aktivita vody výrazne vplývajú na rast bakteriálnych buniek, z uvedeného jednoznačne vyplýva, že podmienky v procese spracovania mlieka a výrobe mliečnych výrobkov sú v tomto smere zásadné (Hickey et al., 2015). Pri výrobe jogurtov sú používané baktérie mliečneho kysnutia *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, ktoré využívajú laktózu za vzniku kyseliny mliečnej a aromatických zlúčenín. Vyprodukovaná kyselina mliečna spôsobuje kyslastú chuť jogurtov, znižuje pH a spôsobuje vytvorenie gélovitej konzistencie. Jogurt má mnoho zdravotných prínosov, je zdrojom vápnika, proteínov, vitamínov a minerálnych látok, ktoré sú v ľahko dostupnej a využiteľnej forme pre ľudský organizmus. Konzumácia jogurtov výrazne prispieva k zdraviu tráviaceho systému (Čanigová et al., 2017). V procese fermentácie sú baktérie mliečneho kysnutia najdôležitejšou štartovacou kultúrou. Baktérie mliečneho kysnutia plnia významnú úlohu pri kontrole pH mliečnych výrobkov, riadia proces glykolýzy v mlieku. Ďalšou dôležitou úlohou tejto skupiny mikroorganizmov je ich vplyv na chuťové vlastnosti mliečnych výrobkoch (jogurt, kyslá smotana, syr) (Hickey et al., 2015). Štartovacie kultúry dokážu znížiť pH výrobku na 4.4 za krátky čas, čím sa vytvorí bariéra pre rast mnohých nežiadúcich mikroorganizmov (Zajác et al., 2020).

Súčasťou štartovacích kultúr v mliekarenskom priemysle sú napríklad baktérie *Lactococcus lactis* ssp., *lactis* a *Lactobacillus helveticus*. Vo všeobecnosti je možné

probiotikám prisúdiť prospešný účinok v súvislosti s nutričnou hodnotou mlieka. Niektoré baktérie mliečneho kysnutia v tomto smere pôsobia podobne ako probiotiká. V oblasti potravinárskej produkcie nachádzajú využitie probiotické kmene ako sú napríklad grampozitívne *Lactobacillus* sp. a *Bifidobacterium* sp, ktoré sú dôležité pre tráviaci systém ľudí a preto nachádzajú uplatnenie v oblasti potravinárskej produkcie (Hill et al., 2017). V oblasti spracovania potravín sa na účely konzervácie mlieka a mliečnych výrobkov využívajú rôzne druhy probiotických baktérií. Probiotiká sa podieľajú na zvýšení výživovej hodnoty potravín, zlepšení chuti a zdraviu prospešných účinkov. Pre posilnenie účinkov probiotík sa využívajú prebiotiká (Evivie et al., 2017). Probiotiká sú v podstate živé nepatogénne mikroorganizmy (kvasinky a baktérie), ktoré kolonizujú tráviaci systém človeka i zvierat a v adekvátnom množstve pozitívne prospeievajú k zdraviu a fyziológii hostiteľa. Probiotiká sú živé nepatogénne mikroorganizmy, ktoré kolonizujú Pojem „probiotiká“ prvýkrát zaviedol Vergin (1954), keď porovnával dobrý účinok testovaných kultúr so škodlivým účinkom antibiotík a iných antimikrobiálnych látok na črevnú mikroflóru. Základ slova pochádza z gréckeho „pro bios“, čiže „pre život“ (Vidová et al., 2013). Najrozšírenejšiu skupinu probiotických mikroorganizmov tvoria bifidobaktérie a baktérie mliečneho kvasenia, ako napr. *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium adolescentis*, ale aj *Enterococcus faecalis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Propionibacterium freudenreichii* a mnoho ďalších (Toma a Pokrotnieks, 2006). V oblasti produkcie potravín podieľajú na zvýšení trvanlivosti a kvality potravín. V oblasti riadenia rizika ochorení z potravín akými sú alergie, prípadne rakovina hrubého čreva, respektíve iné. Jogurt, vajíčka, ovocie, olivový olej, či rôzne druhy semien a orechy predstavujú najdôležitejšie protektívne potraviny s probiotickými účinkami (Evivie et al., 2017). Prebiotikami označujeme nestráviteľné časti potravín sacharidickej povahy, ktoré sa správajú ako nerozpustná vláknina. Sú to napríklad rôzne druhy oligosacharidov (xylo-, chyto-, sójové oligosacharidy) a galaktosacharidov či inulín, ktoré sú v hornej časti gastrointestinálneho traktu a tenkého čreva nestráviteľné. Je to spôsobené substrátovou špecifitou ľudských gastrointestinálnych enzýmov. Prebiotiká prechádzajú v nezmennej podobe až do hrubého čreva, kde sú utilizované práve mikroorganizmami črevnej mikroflóry, stávajú sa potravou pre „dobré“ črevné baktérie a podporujú ich rast, osídľovanie a udržateľnosť v tráviacom trakte. Z pomedzi prebiotík získali ústrednú pozornosť galaktooligosacharidy a oligosacharidy, ktoré sa označujú ako bifidogénne látky (bifidofaktory), s odkazom na ich schopnosti selektívne podporovať rast *Bifidobacterium* spp. (*B. longum*, *B. breve*, *B. pseudolongum*, *B. infantis*, *B. lactis*) a *Lactobacillus* spp. (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri*, *L. plantarum* a pod.) (Vidová et al., 2013; Manucci, 2009).

Potravinársky priemysel bežne využíva za účelom zvýšenia trvanlivosti potravín rôzne konzervačné látky na báze chemických zložiek (napríklad dusičnany, oxid siričitý a pod.), organické a anorganické kyseliny, antimikrobiálne látky či antioxidanty (Murray et al., 2010). Avšak, tieto chemické zložky predstavujú určitú mieru rizika pre organizmus konzumenta, a mnohé z nich sa môžu pridávať len do povolených druhov potravín v množstvách definovaných legislatívou. Základným právnym predpisom, ktorý je nutné dodržiavať v oblasti potravinového práva je na Slovensku Zákon NR SR č. 152/1995 Z.z. o potravinách (Ševcová et al., 2021), ďalej je nutné dodržiavať špecifickú legislatívu Európskej únie regulujúcu používanie prídavných látok. Prídavné látky, ktoré sú povolené v potravinách, a podmienky ich použitia sú uvedené v prílohe II k nariadeniu (ES) č. 1333/2008 o prídavných látkach v potravinách. Povolené sú iba tie prídavné látky, ktoré sú uvedené v tomto zozname, a to za špecifických podmienok. Prídavné látky v

potravínach sú na tomto zozname uvádzané podľa kategórií potravín, do ktorých sa smú pridávať (ES, 2008).

Akákoľvek alternatíva v oblasti konzervovania potravín, ktorá minimalizuje nevyhnutnosť využitia chemických konzervačných látok je prínosná, či už z hľadiska krátkodobého alebo dlhodobého zdravotného aspektu. Mikroorganizmy a baktérie produkujúce antimikrobiálne peptidy predstavujú vhodnú alternatívu chemických konzervačných látok a eliminujú riziká z nich vyplývajúce, taktiež neznižujú výživovú hodnotu či kvalitu potravín a ich senzorické vlastnosti. V súčasnosti sa na konzerváciu mliečnych výrobkov využíva metóda syntézy peptidov, enzymatická syntéza, chemická syntéza, či rekombinantná syntéza (Rai et al., 2016).

Mlieko ako živná pôda pre mikroorganizmy

V kontaminovanom mlieku a mliečnych výrobkoch môžu rásť baktérie spôsobujúce kazenie ale aj patogénne baktérie, ktoré môžu negatívne ovplyvniť zdravie spotrebiteľa. Baktérie spôsobujúce kazenie menia chuť potraviny na nepríjemnú a vyvolávajú zápach, zatiaľ čo patogénne baktérie bez premeny zložiek potraviny na páchnuce či inak negatívne pôsobiace produkty sú schopne vyvolávať rôzne ochorenia z potravín. Podstatou konzervácie je najmä eliminácia prítomnosti nežiaducich mikroorganizmov a ich spór kontrolou ich enzymatickej činnosti vrátane kontroly všetkých potenciálnych zdrojov, ktoré spôsobujú skazenie mlieka.

Alternatívne metódy konzervácie mlieka a mliečnych výrobkov

Biokonzervačné látky zohrávajú významnú úlohu vďaka svojim zdraviu-prospešným účinkom v porovnaní s chemickými konzervačnými látkami. Viaceré typy mikroorganizmov sú posudzované v oblasti výskumu, zameraného na štúdium potenciálu ich využitia v oblasti konzervácie potravín (Donovan et al., 2005).

Využitie baktérií mliečneho kysnutia v procese konzervácie

Baktérie mliečneho kysnutia vo všeobecnosti zahŕňajú rody: *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Aerococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus* a *Vagococcus*. Všetky menované predstavujú grampozitívne mikroorganizmy netvoriace spóry, v tvare tyčiniek a kokov, ktoré sú schopné fermentovať sacharidy. Ich hlavným produktom v procese fermentácie je kyselina mliečna. Podstatou využívania baktérií mliečneho kysnutia v procese fermentácie a spracovania potravín ich je charakteristika bezpečnosti (označenie GRAS – generally recognized as safe), aj vďaka čomu nachádzajú široké uplatnenie pri výrobe fermentovaných mliečnych výrobkov. Okrem organických kyselín v procese fermentácie produkujú peroxid vodíka a bakteriocíny. Okrem uplatnenia v potravinárstve, nachádzajú baktérie mliečneho kysnutia svoje miesto aj v oblasti produkcie probiotických doplnkov. Baktérie mliečneho kysnutia produkujú antimikrobiálne látky (Kerr et al., 2001), v oblasti mliekarenskej výroby nachádzajú svoje uplatnenie pri fermentovanom alebo nefermentovanom mlieku a mliečnych výrobkoch, podieľajú sa na zvýšení úrovne bezpečnosti a kvality mliečnych výrobkov, čím sa priamo a efektívne podieľajú na predĺžení trvanlivosti týchto potravín a redukcii ochorení z potravín. Tieto baktérie produkujú peptidy, ktoré sa považujú za prírodné biokonzervačné látky a ich potenciálne uplatnenie v potravinárskom priemysle vzbudzuje veľký záujem (Arqués et al., 2015). Bakteriocíny sú označované ako peptidy, jedná sa o látky syntetizované z baktérií. Sú charakteristické tým, že spomaľujú rast, prípadne eliminujú iné príbuzné alebo nepríbuzné mikroorganizmy, čím sa podieľajú na zvyšovaní

bezpečnosti takto vyrobených potravín. Bakteriocíny sú na základe ich biosyntetického účinku a aktivity klasifikované do 3 hlavných tried:

- a) nemodifikované bakteriocíny,
- b) post-translačne upravené tenké peptidy,
- c) dlhé peptidy.

Bakteriocíny sa využívajú ako biokonzervačná látka buď samostatne, alebo v kombinácii s inými metódami konzervácie. Väčšina mliečnych výrobkov vyrobených z pasterizovaného mlieka sa uchováva pri chladničkových teplotách, ktoré úplne nezabránia množeniu baktérií. Teda k ovplyvneniu bezpečnosti potravín môže dochádzať v neskorších fázach spracovania mliečnych výrobkov. Bakteriocíny sa okrem samotného procesu fermentácie podieľajú na kreovaní chuťových vlastností výrobkov, či na procese zrenia syra (Houdebine, 2017). Metódy ošetrovania mliečnych výrobkov využívajúce kombináciu rôznych kmeňov a konzervačných metód, poskytujú ešte vyššiu úroveň ochrany výrobkov a spotrebiteľa. Probiotické kultúry produkujúce bakteriocíny, ktoré sú schopné prežívania v tráviacom systéme spotrebiteľa sú zároveň nápomocné v oblasti prevencie a redukcie výskytu patogénov v črevách (Silva et al., 2018).

Existuje niekoľko typov bakteriocínov, ktoré sa využívajú v prevencii pred patogénmi ako napríklad:

Nizín, možno ho klasifikovať ako prírodné antibiotikum, je zároveň komerčne najpoužívanejším baktericínom. Nizín je schválenou konzervačnou látkou výborom expertov pre konzervačné látky v potravinách svetovej zdravotníckej organizácie (WHO). Nizín vykazuje antimikrobiálnu aktivitu voči gram-pozitívnymi baktériami, akými sú patogénna *Listeria monocytogenes* či *Staphylococcus aureus* a sporotvorným baktériami rodu *Bacillus* resp. iným. Jeden z najčastejších dôvodov aplikácie nizínu je prevencia pred tzv. nafúknutím syrov v procese ich zrenia, v dôsledku produkcie plynov baktériami rodu *Clostridium* spp. Nizín vzbudil záujem vďaka svojej antibakteriálnej aktivite, stabilite v prípade použitia u rôznych druhov potravín a rezistentnosti na vysoké teploty, či jeho odolnosť voči proteolytickým enzýmom (Rai et al., 2016).

Lakticíny sú produkované dvoma kmeňmi *Lactococcus lactis*: subsp. *lactis* DPC3147 a subsp. *lactis* CNRZ 481. Lakticíny 3147 v práškovej forme sú efektívne uplatniteľné pri eliminácii baktérií rodov *Listeria* sp. a *Bacillus* sp. pri produkcii dojčenského mlieka, bielych jogurtov, tvarohu či iných mliečnych výrobkov. Na strane druhej, aplikácia lakticínov v potravinách nedokáže zabezpečiť absolútnu elimináciu prítomnosti patogénov akými sú *Listeria monocytogenes* (Luo et al., 2017).

Enterocíny sú produkované enterokokmi, z hľadiska ich využitia v potravinárstve sú bezpečné, avšak ich produkcia sa spája s mikroorganizmami vyvolávajúcimi infekčné ochorenia u ľudí, vrátane iných organizmov. Enterokoky v prípade ich využitia v potravinárskej produkcii musia prejsť procesom purifikácie. V takto modifikovanej podobe sa stávajú účinným nástrojom v prevencii proti patogénom vyvolávajúcim ochorenia z potravín, zároveň napomáhajú v oblasti prevencie pred rastom iných nežiaducich mikroorganizmov (Gautam a Sharma, 2009).

Pediocíny, klasifikované ako nemodifikované bakteriocíny, sú komerčne využívané pri konzervácii mliečnych výrobkov a sú účinnejšie ako post-translačne upravené tenké peptidy respektíve dlhé peptidy. Sú stabilné vo vodných roztokoch, dobre znášajúce proces mrazenia a varenia a zároveň sú pH rezistentné (Mishra et al., 2009).

Ekonomická stránka súvisiaca s nákladovosťou pri získavaní bakteriocínov cestou separácie a destilácie do značnej miery limituje objavovanie nových komerčne využiteľných bakteriocínov. Rovnako, prísne formulovaná potravinová legislatíva do značnej miery obmedzuje využívanie nových bakteriocínov ako potravinových

konzervantov. V súčasnosti len nizin a pediocín sú akceptované pre komerčné využitie (Brundige et al., 2018).

Uplatnenie enterokokov v procese konzervácie mliečnych výrobkov

Enterokoky boli prvýkrát opísané Thiercelinom v roku 1899, následne Thiercelin a Jouhaud stanovili v roku 1903 rod *Enterococcus*. Prítomnosť enterokokov v mlieku a mliečnych výrobkoch pozitívne prispieva k formovaniu jedinečných vedľajších výrobkov, cestou ochrany týchto výrobkov pred vplyvom rôznych negatívnych faktorov, obdobne ako je to u probiotík. S ohľadom na ich povahu, rezistentnosť voči teplote a adaptibilitu voči rôznym substrátom a podmienkam prostredia, dokážu rásť aj v podmienkach teplôt v procese mrazenia a prežívať aj proces pasterizácie mlieka a mliečnych výrobkov. Enterokoky sú teda prítomné v surovom aj pasterizovanom mlieku. Za zmienku stojí aj fakt, že v syroch ako Mozzarella a Cheddar, sú enterokoky prítomné v dominujúcom zastúpení v úplne vyzretom produkte. Vysoké počty kontaminujúcich enterokokov môžu narušovať senzorické vlastnosti niektorých syroch, avšak na strane druhej zohrávajú dôležitú úlohu v procese zrenia a pri formovaní arómy. Bezpečné a komerčne dostupné kmene enterokokov sa využívajú v potravinárstve, aj ako probiotiká, bez rizika virulentnosti či rezistencie na antibiotiká (Bhardwaj et al., 2008).

Využitie bakteriofágov ako biokonzervantov

Bakteriofágy a fágy sú najrozšírenejšie mikroorganizmy aj z hľadiska ich výskytu v potravinách rôzneho pôvodu. Predstavujú vírusy, schopné infikovať a množiť sa v baktériách. Sú neškodné voči hostiteľom ako sú človek, či iné organizmy. Pri biokonzervácii bakteriofágy nachádzajú pozitívne uplatnenie v asociácii s organizmami podieľajúcimi sa na procese fermentácie. Jedná sa o efektívny spôsob ich využitia v procese spracovania potravín, endolyzínmi sa efektívne redukovávajú mikroorganizmy ako sú *Salmonella* sp. napríklad pri výrobe syru cheddar. Endolyzíny - fágové lyzíny, označované ako fágom kódované peptidoglykánové hydrolázy, sa u väčšiny bakteriofágov podieľajú na enzymatickej degradácii peptidoglykánovej vrstvy hostiteľskej baktérie. Bakteriofágy využívajú endolyzín na konci ich replikačného cyklu za účelom degradácie peptidoglykánu hostiteľskej baktérie. Endolyzíny sú efektívne antimikrobiálne látky vďaka absencii vonkajšej membrány obklopujúcej bunkovú stenu grampozitívnych baktérii. Pri biokonzervácii bakteriofágy pôsobia symbioticky s mikroorganizmami podieľajúcimi sa na procese fermentácie. Ide o efektívnu metódu v oblasti produkcie bezpečných potravín. Vďaka svojim prospešným účinkom kontrolujú rast baktérií ako je *Salmonella* sp. v syre cheddar a rast *Staphylococcus aureus* pri výrobe tvarohu. Podieľajú sa na úplnej eliminácii *Listeria monocytogenes* počas zrenia a skladovania polotvrdých syrov. Zaznamenaný bol aj účinok inhibície *Enterobacter sakazakii* pri výrobe dojčenskej výživy (Singh, 2018). Endolyzín je ľahko dostupný pre peptidoglykán. Endolyzíny zvyčajne vykazujú úzke spektrum lytickej aktivity, sú menej viazané na bakteriálnu aktivitu fágového hostiteľa. V minulosti bolo izolovaných niekoľko endolyzínov, ktoré pôsobia proti rôznym patogénnym mikroorganizmom v potravinách. Pozitívnu správou v tomto smere je skutočnosť, že v súčasnosti prakticky neexistuje žiadna rezistencia voči endolyzínom. V oblasti štúdia využitia genetických modifikácií boli napríklad vytvorené transgénne dojnice, ktoré vďaka vyššej expresii endolyzínov vykazovali vyššiu rezistentnosť v súvislosti s výskytom zápalov mliečnej žľazy (mastitída), či prítomnosťou *Staphylococcus aureus* v mlieku týchto kráv. Endolyzíny dokázateľne plnia významnú úlohu pri spracovaní mlieka, najmä cestou eliminácie *Staphylococcus aureus* v pasterizovanom mlieku (Singh, 2018).

Záver

Hlavným cieľom v oblasti spracovania mlieka je produkovať bezpečné potraviny. V tomto článku sme uviedli alternatívne spôsoby konzervácie prostredníctvom baktérií mliečneho kysnutia a bakteriocínov, ktoré tieto baktérie produkujú v rámci svojho metabolizmu. Štartovacie kultúry sú schopné rýchlo znížiť pH výrobku, čím vytvárajú bariéru pre rast mnohých mikroorganizmov. Bakteriocíny ako sú nizín, lakticíny, pediocíny a enterocíny konzervujú potraviny a predlžujú ich trvanlivosť. Geneticky modifikované bakteriofágy pri splnení podmienok bezpečnosti ich využitia predstavujú zaujímavú alternatívu v oblasti zabezpečenia trvanlivosti potravín. Aplikácia biokonzervačných látok teda predstavuje vhodnú alternatívu pre potravinársky priemysel.

PodĎakovanie

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-17-0508 a APVV-19-0180.

Použitá literatúra

- Arqués, J. L., Rodríguez, E., Langa, S., Landete, J. M., Medina, M. (2015). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria in dairy products and gut: Effect on pathogens. *BioMed Research International*, vol. 2015, p. 584183.
- Bhardwaj, A., Malik, R.K., Chauhan, P. (2008). Functional and safety aspects of enterococci in dairy foods. *Indian Journal of Microbiology*, vol. 48, pp. 317–325.
- Brundige, D. R., Maga, E. A., Klasing, K. C., Murray, J. D. (2018). Lysozyme Transgenic Goats' Milk Influences Gastrointestinal Morphology in Young Pigs., *J. Nutr.*, vol. 138, no. 5, pp. 921–926.
- Čanigová, M., Kováčsová, A., Remeňová, Z., Kročko, M. (2017). Sledovanie vplyvu rôznych prídavkov agátového medu na vlastnosti jogurtov počas skladovania. *Chem. Listy*, vol. 111, pp. 213–216.
- Donovan, D. M., Kerr, D. E., Wall, R. J. (2005). Engineering disease resistant cattle. *Transgenic Res.*, vol. 14, no. 5, pp. 563–567.
- ES, 2008. Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 zo 16. decembra 2008 o prídavných látkach v potravinách (Text s významom pre EHP). Ú. v. EÚ L 354, 31.12.2008, s. 16–33.
- Evivie, S. E., Huo, G. C., Igene, J. O., Bian, X. (2017). Some current applications, limitations and future perspectives of lactic acid bacteria as probiotics. *Food Nutr. Res.*, vol. 61, no. 1, p. 1318034.
- Gautam, N., Sharma, N. (2009). Bacteriocin: Safest approach to preserve food products. *Indian Journal of Microbiology*, vol. 49, pp. 204–211.
- Hickey, C. D., Sheehan, J. J., Wilkinson, M. G., Auty, M. A. E. (2015). Growth and location of bacterial colonies within dairy foods using microscopy techniques: A review. *Frontiers in Microbiology*, vol. 6, pp. 1–8.
- Hill, D., Sugrue, I., Arendt, E., Hill, C., Stanton, C., Ross, R. P. (2017). Recent advances in microbial fermentation for dairy and health. *F1000 Research*, vol. 6, p. 751.
- Houdebine, L. M. (2017). Transgenic animal production. *Biotechnol. Sustain. Agric. Emerg. Approaches Strateg.*, vol. 61, pp. 141–184.

- Kerr, D. E., Plaut, K., Bramley, A. J., Williamson, C. M., Lax, A. J., Moore, K., Wells, K. D., Wall, R. J. (2001). Lysostaphin expression in mammary glands confers protection against staphylococcal infection in transgenic mice. *Nat. Biotechnol.*, vol. 19, no. 1, pp. 66–70.
- Luo, L., Tang, J., Nishi, K., Yan, CH., Dinh, P. U., Cores, J., Kudo, T., Zhang, J., Li, T. S., Cheng, Ke. (2017). Fabrication of Synthetic Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Acute Myocardial Infarction in Mice. *Circ. Res.*, vol. 120, no. 11, pp. 1768–1775.
- Mishra, S., Singh, R. B., Dwivedi, S. P., De Meester, F., Rybar, R., Pella, D., Fedacko, J., Juneja, L. R. (2009). Effects of nutraceuticals on genetic expressions. *Open Nutraceuticals J.*, vol. 2, pp. 70–80.
- Murray, J. D., Mohamad-Fauzi, N., Cooper, C. A., Maga, E. A. (2010). Current status of transgenic animal research for human health applications. *Acta Scientiae Veterinariae*, vol. 38, pp. 627–632.
- Rai, M., Pandit, R., Gaikwad, S., Kövics, G. (2016). Antimicrobial peptides as natural bio-preservatives to enhance the shelf-life of food. *Journal of Food Science and Technology*, vol. 53, pp. 3381–3394.
- Silva, C. C. G., Silva, S. P. M., Ribeiro, S. C. (2018). Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation. *Frontiers in Microbiology*, vol. 9, p. 594.
- Singh, V. P. (2018). Recent approaches to food bio-preservation – a review. *Open Veterinary Journal*, vol. 8, p. 104.
- Ševcová, K., Zajác, P., Čapla, J., Čurlej, J. (2021). Development of the food act of the Slovak Republic from 1995 to 2021. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 15, pp. 982–994.
- Thorning, T. K., Raben, A., Tholstrup, T., Soedamah-Muthu, S. S., Givens, I., Astrup, A. (2016). Milk and dairy products: good or bad for human health? An assessment of the totality of scientific evidence. *Food. Nutr. Res.*, vol. 60, p. 32527.
- Toma, M. M., Pokrotniek, S. J. 2006. Probiotics as functional food: Microbiological and medical aspects. *Acta Universitatis Latviensis*, vol. 710, p. 117–129.
- Vidová, M., Hronská, H., Tokošová, S., Rosenberg, M. (2013). Importance of prebiotic and probiotic: the role of galactooligosaccharides as prebiotic additives: a review. *Potravinárstvo*, vol. 7, no. 1, pp. 28–35.
- Zajác, P., Čapla, J., Vietoris, V., Zubrická, S., & Čurlej, J. (2015). Effects of storage on the major constituents of raw milk. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 9, no. 1, pp. 375–381.
- Zajác, P., Kúšová, L., Benešová, L., Čapla, J., Čurlej, J., & Golian, J. (2020). Effect of commercial yogurt starter cultures on fermentation process, texture and sensoric parameters of white yogurt. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 14, pp. 300–306.

P5

OBSAH A VARIABILITA TUKU A BIELKOVÍN VO VYBRANÝCH POLOTVRDÝCH SYROCH

CONTENT AND VARIABILITY OF FAT AND PROTEIN IN SELECTED SEMIHARD CHEESES

**Jozef Golian, Lucia Benešová, Miroslav Kročko, Kristína Kollárová, Silvia
Jakabová**

Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská
poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovenská republika

SÚHRN

Cieľom tejto štúdie bolo charakterizovať obsah a variabilitu tuku a bielkovín v deviatich polotvrdých syroch, získaných z maloobchodu na Slovensku. Analyzované syry patrili do skupiny polotvrdých syrov holandského typu a typu tehla, ktoré patria k najčastejšie konzumovaným syrom na Slovensku. Syry Gouda a Edam tvoria 2 hlavné druhy holandského syra a líšia sa medzinárodne v požiadavkách na obsah mliečneho tuku používaného na výrobu syra; pri syre Eidam sa používa čiastočne odstredené mlieko a pri syre Gouda sa používa plnotučné mlieko. Vzorky sa analyzovali použitím štandardných referenčných laboratórnych metód a NIR molekulovou spektroskopiou. Celkový obsah tuku po hydrolýze sa pohyboval od 30,63 do 17,57 g.100g⁻¹ vzorka, obsah bielkovín bol v rozsahu medzi 27,01 a 22,13 g.100g⁻¹ vzorka. Výrazne najvyšší obsah bielkovín bol stanovený vo vzorke Eidamskej tehly (ET5), ktorá mala zároveň najnižší obsah tuku. Stredné a zároveň podobné obsahy bielkovín aj tukov boli zistené vo vzorkách Eidam syrov (ET1, ET2, ET3) a syra Gouda (ET12), a pohybovali sa v intervale od 24 g.100 g⁻¹ do 26 g.100 g⁻¹ a priemerný obsah tukov sa zase pohyboval od 25 g.100 g⁻¹ do 27 g.100 g⁻¹. Údaje boli skúmané a vyhodnotené softvérom XLSTAT. Na základe porovnania uvedených parametrov boli medzi vzorkami zistené štatisticky významné rozdiely (p<0,05).

ABSTRACT

The aim of this study was to characterize content and variability of fat and proteins in nine semi-hard cheeses, obtained from the retails in Slovakia. 2 main types of holland cheese are represented by Gouda and Edam cheeses. The cheeses have different requirements in international environment for the content of milk fat that is used for cheese production. Edam cheese is produces from partial skim, and gouda cheese is made from whole milk. Samples were analyzed using standard laboratory reference methods and NIR molecular spectroscopy. Total fat content after hydrolysis ranged from 30.63 to 17.57 g.100g⁻¹ sample, content of proteins was in the range between 27.01 and 22.13 g.100g⁻¹ sample. The significantly highest protein content was determined in a sample of brick Edam (ET5), which also had the lowest fat content. Medium and at the same time similar protein and fat contents were found in samples of Edam cheeses (ET1, ET2, ET3)

and Gouda cheese (ET12), and ranged from 24 g.100 g⁻¹ to 26 g.100 g⁻¹ and the average fat content in turn ranged from 25 g.100 g⁻¹ to 27 g.100 g⁻¹. The data was investigated and evaluated by XLSTAT software. Statistical significant differences ($p < 0.05$) were found between the samples based on the comparison of mentioned parameters.

ÚVOD

Syry holandského typu, medzi ktorých hlavných predstaviteľov zaradujeme najmä syr Eidam a syr Gouda sú polotvrdé syry, ktoré sa dajú dobre krájať a strúhať. Sú charakteristické svojou výrobnou technológiou, ktorá využíva pasterizované, zväčša kravské mlieko, mezofilné štartovacie kultúry so zmiešanými kmeňmi a ako syridlo do výrobného procesu vstupuje chymozín. Obmývaním, resp. obarením syreniny pri miernej teplote a vysokom pH sa upravuje obsah vlhkosti, laktátu a obsah minerálnych látok. Pri solení týchto syrov sa využíva soľanka (**Düsterhöft et al., 2016**).

Syr je bohatý na väčšinu výživných látok potrebných pre ľudské telo vrátane bielkovín, bioaktívnych peptidov, aminokyselín, tukov, mastných kyselín, vitamínov a minerálnych látok. Niektoré peptidy v syre sú známe ako kardioprotektívne zložky, ktoré zahŕňajú aj minerálne látky znižujúce krvný tlak, ako je vápnik (**Rashidinejad et al., 2017**).

Nutričné zloženie syra sa líši v závislosti od druhu syra, ale vo všeobecnosti majú syry vysoký obsah tuku, nasýtených tukov a cholesterolu (**O'Callaghan et al., 2017**).

Tuk je druhou najdominantnejšou zložkou syra a tvorí 20 - 35 % sušiny. Jedna 50 g dávka plnotučného syra je v skutočnosti približne dvoma tretinami odporúčaného denného príjmu tuku pre dospelého človeka (**Walther et al., 2008**).

Pomer tuku v syroch sa môže takisto líšiť, čo vplýva na ich organoleptické vlastnosti. Nízkoťučné syry sa zvyčajne vyznačujú tým, že majú zlú konzistenciu, chuť a nedostatočné funkčné vlastnosti, čo je spôsobené vysokou vlhkosťou a nízkym obsahom solí. Tuk odstránený pri výrobe syra s nízkym obsahom tuku je väčšinou substituovaný vlhkosťou. Zväčša sa pri výrobe tohto typu syra používajú nižšie teploty, kratšie časy spracovateľských technológií, použitie pomalých kultúr (na zabránenie nadmernej tvorby kyselín a horkých chutí), stabilizátorov, náhrad tuku a použitie ďalších doplnkových kultúr a enzýmov. Samotná homogenizácia počas technologickej úpravy zlepšuje textúru a funkčné vlastnosti nízkoťučných syrov (**Logan et al., 2017**).

Mliečne lipidy v ľudskej strave sú dobrým zdrojom energie, vitamínov rozpustných v tukoch (A, D, E, K) a esenciálnych mastných kyselín. Syr je najbežnejším typom mliečného výrobku konzumovaným spotrebiteľmi po celom svete. Mlieko a mliečne výrobky sa konzumujú často a vo veľkých množstvách, ale i malé zmeny v ich konzumácii môžu mať za následok veľké účinky na zdravie obyvateľstva. Napríklad v niektorých prípadoch boli pozitívne spojené so zníženým výskytom rakoviny, či znižovaním zubného povlaku (**Vargas-Bello-Pérez et al. 2020**).

Obsah bielkovín v syre sa pohybuje približne od 3 do 40 % v závislosti od typu (**O'Callaghan et al., 2017**). Dominantnou bielkovinou v syre je kazeín, keďže prevažná väčšina srvátkových bielkovín sa stráca v srvátke. Keďže kazeínu je chudobnejší na aminokyseliny s obsahom síry, biologická hodnota syrového proteínu je nižšia ako u celkových mliečnych proteínov. V prípade, že sú srvátkové bielkoviny zakomponované

do syra napr. použitím ultrafiltrácie, je biologická hodnota syrového proteínu podobná celkovým mliečnym proteínom (O'Callaghan et al., 2017).

Zrenie syra zvyčajne zahŕňa progresívne štiepenie kazeínu mliečnymi enzýmami, syridlom a bakteriálnymi enzýmami na vo vode rozpustné a nerozpustné peptidy a aminokyseliny. Tento proces, ktorý je nevyhnutný pre rozvoj chuti a textúry, tiež zvyšuje stráviteľnosť syra bielkovín na takmer 100 % (O'Callaghan et al., 2017).

Syr a iné mliečne výrobky sú zdrojom mnohých bioaktívnych peptidov s antimikrobiálnymi, protizápalovými, antihypertenzívnymi a antioxidačnými vlastnosťami (Pritchard a kol. 2010).

Základné nutričné zloženie syra možno určiť chemickými referenčnými metódami na stanovenie tuku (napr. extrakcia éterom), obsahu bielkovín (Kjeldahl), vlhkosti (gravimetrické stanovenie sušením v sušiarňi) a soli (titrácia dusičnanom strieborným podľa Volharda), ktoré sú presné, ale sú časovo náročnejšie. V súčasnosti sa používajú rýchle procesné a cenovo výhodnejšie metódy molekulovej spektroskopie ako napr. infračervená spektrometria (NIR), alebo spektroskopia blízkej infračervenej priepustnosti (NIT) na simultánne stanovenie viacerých chemických parametrov (tuk, bielkoviny, soľ a vlhkosť) (Margolies a Barbano, 2018; Alinovi et al., 2019; Visconti a kol., 2020; Madalozzo a kol., 2015; Manuelian a kol., 2017; Jakabová et al., 2021).

MATERIÁL A METODIKA

K hodnoteniu vybraných analytických parametrov syrov bolo použitých 9 vzoriek polotvrdých syrov, z ktorých 6 vzoriek bolo holandského typu (Eidam a Gouda) a 3 syry boli typu tehla. Vzorky boli zakúpené v obchodnej sieti Slovenskej republiky, pričom 7 výrobkov, ktoré boli súčasne našimi vzorkami bolo vyrobených v Slovenskej republike a 2 v Poľsku. LT 1 – Eidam syr, LT 2 – Eidam syr, LT 3 – Eidam syr, LT 5 – Eidamská tehla, LT 7 – Hriňovská tehla, LT 9 – Michalovská tehla, LT 10 – Eidam syr, LT 11 – BIO syrošík, LT 12 – Gouda. Analýza obsahu bielkovín a tukov sa vykonala na prístroji MPA od firmy Brucker. Išlo o FT-NIR spektrofotometer, umožňujúci rýchlu, presnú analýzu, prístroj je jednoduchý na obsluhu a slúži na nedeštruktívnu analýzu kvapalných, tuhých a polotuhých materiálov, pričom šetrí náklady znížením času analýzy, ktorá nevyžaduje použitie činidla. Vzorky boli zároveň analyzované na obsah tukov po hydrolyze a celkový obsah bielkovín v akreditovanom laboratóriu. Na stanovenie obsahu bielkovín bola použitá Kjeldahlova metóda a na stanovenie tuku po hydrolyze bola použitá extrakcia podľa Soxhleta a gravimetrická analýza. Štatistická analýza bola vykonaná v programe Excel so štatistickým softvérom XLSTAT (vs. 2020.3.1) pre Excel. Chemické parametre boli analyzované pomocou deskriptívnej štatistiky (priemery, štandardné odchýlky, minimálne, maximálne hodnoty) a výsledky boli vizualizované v boxploch.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

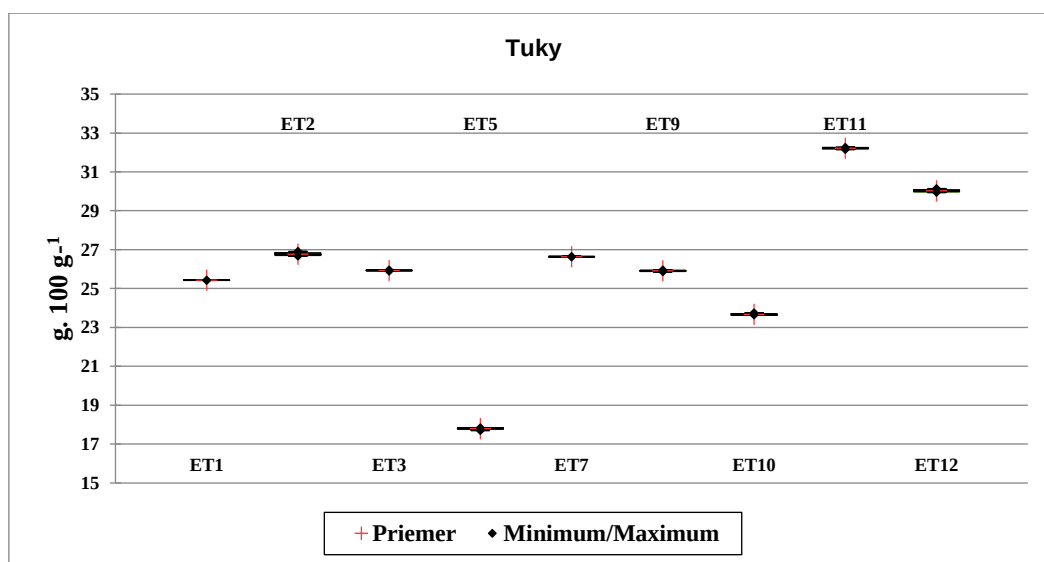
Porovnaním výsledkov obsahu bielkovín vo vzorkách syrov a analýz uvedených v literatúre je možné konštatovať, že hodnoty obsahu tuku namerané u našich vzoriek sa významne nelíšia od hodnôt, ktoré boli publikované v literatúre. Obrázky 1 a 2 uvádzajú rozloženie hodnôt obsahu tuku stanovených pomocou vykonaných analýz. Z obrázkov

vyplýva, že najnižší obsah tuku, ako podľa výsledkov NIR analýzy, tak aj podľa štandardných laboratórnych analýz bol vo vzorke ET5. Najvyššie hodnoty obsahu tuku sme podľa oboch analýz zistili vo vzorke ET11. Vo vzorkách ET1, ET2, ET3, ET7 a ET9 sa priemerné obsahy tuku pohybovali od 25 g.100 g⁻¹ do 27 g.100 g⁻¹.

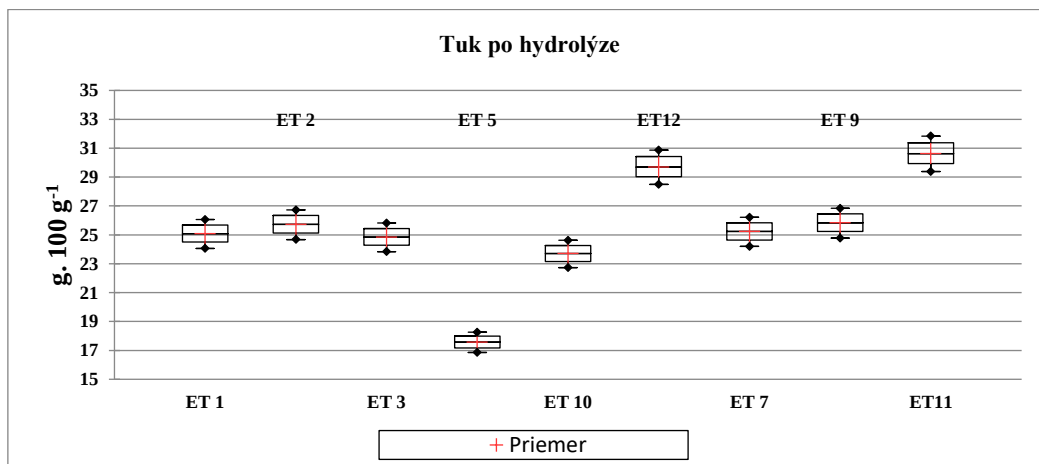
O'Callaghan et al. (2017) publikovali zloženie vybraných syrov. V práci uvádzajú, že syry typu Eidam obsahovali 25,4% tuku a syry typu Gouda 31% tuku. **Walstra et al. (2005)** uvádzajú, že obsah tuku v syre Gouda a Eidam v sušine sa pohyboval od 40 do 50 %. Obsah tuku vplýva aj na samotnú chuť syra. Podľa výskumov **Yatesa et al. (2007)** spotrebitelia uprednostňujú syry holandského typu s hladkou a súdržnou textúrou pred syrom s vyššou lámavosťou, pevnosťou alebo pružnosťou. Táto štúdia naznačuje, že chuť, ktorú do veľkej miery ovplyvňuje obsah tuku a textúra sú kľúčovými faktormi pri výbere syra. Polotvrde syry s vysokým obsahom tuku sú mäkkšie, menej rozomielateľné, s vyššou súdržnosťou, príľnavosťou a hladkosťou hmoty syra.

Podobné výsledky zistili vo svojej štúdii aj **Felfoul et al. (2015)**. Tí uvádzajú, že obsah tuku v analyzovaných polotvrdých syroch sa nachádzal v rozpätí od 25,8 do 43,2 g.100 g⁻¹ a zároveň konštatujú, že obsah sušiny významne ovplyvňuje celkové organoleptické vlastnosti syra, pričom tiež uvádzajú, že obsah mliečneho tuku v syre je významne závislý od celkového obsahu sušiny a konštatujú, že čím vyšší obsah sušiny sa v syre nachádza, tým vyšší obsah tuku syr obsahoval. Ďalej uvádzajú, že svojím výskumom dokázali, že zníženie obsahu tuku spôsobuje zvýšenie obsahu bielkovín a zníženie obsahu sušiny u nízkotučných syrov, pričom použitím tukových náhrad v syroch so zníženým obsahom tuku sa zvyšuje kapacita viazania vody a zlepšuje sa celková kvalita syrov.

Obr. 1 Variabilita obsahu tuku u vzoriek syrov z NIR analýzy

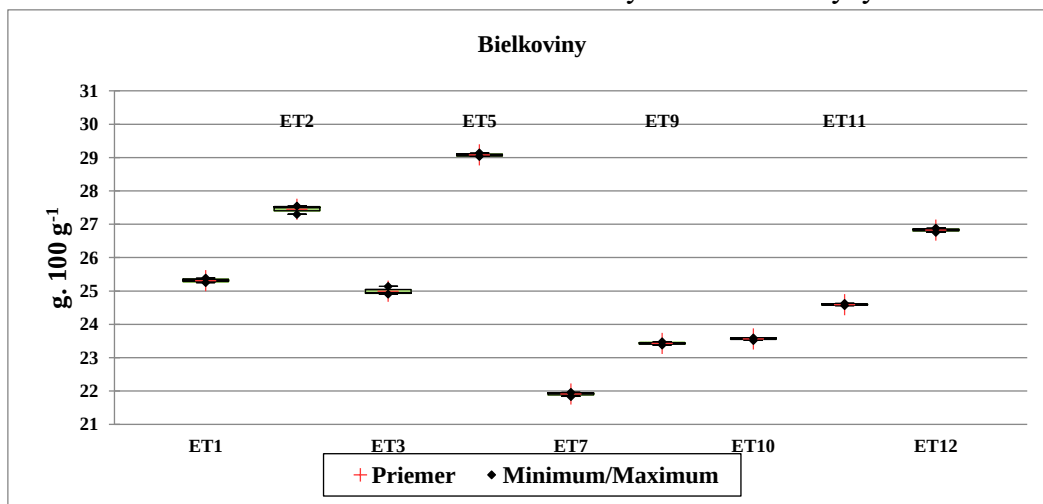


Obr. 2 Variabilita obsahu tuku u vzoriek syrov zo stanovenia štandardnou analýzou podľa Soxhletha

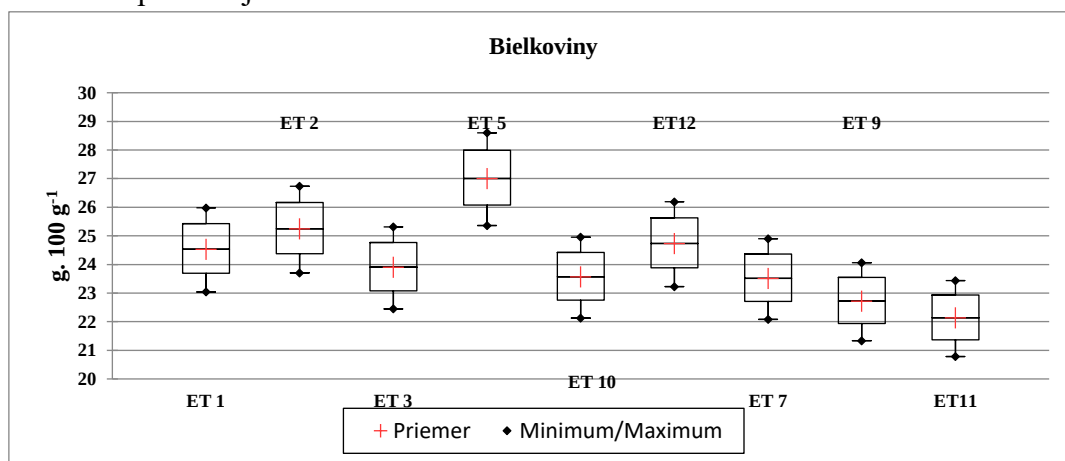


Obrázky 3 a 4 uvádzajú výsledné hodnoty obsahu bielkovín stanovených pomocou NIR analýzy a štandardnej metódy podľa Kjeldahla. Z daných výsledkov vyplýva, že výrazne najvyšší obsah bielkovín bol stanovený vo vzorke ET5, pričom u oboch vykonaných analýz, ako spektroskopickú (29,08 g.100 g⁻¹), tak aj štandardnej (27,01 g.100 g⁻¹) mala táto vzorka najvyššie hodnoty spomedzi všetkých analyzovaných vzoriek. Podobné obsahy bielkovín boli zistené vo vzorkách ET1, ET2, ET3 a ET12, a pohybovali sa v intervale od 24 g.100 g⁻¹ do 26 g.100 g⁻¹.

Obr. 3 Variabilita obsahu bielkovín u vzoriek syrov z NIR analýzy



Obr. 4 Variabilita obsahu bielkovín u vzoriek syrov z analýzy celkového obsahu bielkovín podľa Kjeldahla



Štúdie **Ibáñez et al. (2020)** uvádzajú, že obsah bielkovín v polotvrdých syroch sa mal hodnoty od 20 g.100 g⁻¹, pričom niektoré druhy syra Gouda dosahovali obsah bielkovín až do 36 g.100 g⁻¹. Porovnateľné výsledky uvádzajú aj **Düsterhöft et al. (2011)**. Ďalej dodávajú, že obsah bielkovín je silne závislý od priebehu proteolýzy v syre, pričom uvádzajú, že to nie je len chuť a textúra v atribútoch senzorickej analýzy, ale že aj samotná farba syra je podmienená obsahom bielkovín nachádzajúcich sa v syre. Autori uvádzajú, že mladšie a kratšie zrejúce syry, sú typické svojou pružnosťou a hladkosťou, na rozdiel od starších, dlhšie zrejúcich polotvrdých syrov, ktoré sú charakteristické svojou vyššou súdržnosťou, lepivosťou a pevnosťou, ktoré sú následkom vplyvu nižšej vlhkosti a práve rozpadu proteínovej matrice, ktorý charakterizovali aj **Yates et al. (2007)**. Autori tiež uvádzajú, že obsah bielkovín u holandských typov syra (gouda a eidam) sa nachádzal v rozpätí od 19,8 do 35,4 g.100 g⁻¹, čím sú naše výsledky v súlade s publikovanými obsahmi bielkovín v rovnakých typoch syra.

Felfoul et al. (2015) vo svojej štúdií zameranej na nízkotučné a plnotučné holandské syry prišli k záverom, že vzorky plnotučného syra vykazovali najnižší celkový obsah dusíka počas celej doby zrenia, avšak na 60. deň nebol rozdiel medzi vzorkami plnotučného a nízkotučného syrového výrobku významný. Ďalej uvádzajú, že obsah bielkovín v polotvrdých syroch bol ovplyvnený obsahom mliečneho tuku, a zároveň obsah bielkovín v syroch bol pozitívne ovplyvnený zmesou emulgátorov a obsahom tuku, pričom v rovnakom kontexte **Lobato-Calleros et al. (2003)** nepozorovali žiadny významný rozdiel v obsahu bielkovín medzi plnotučnými a nízkotučnými syrmi.

Pri porovnaní našich výsledkov a výsledkov z odborných štúdií môžeme usúdiť, že ani jedna z našich vzoriek nevykazovala extrémne nízke alebo extrémne vysoké hodnoty obsahu bielkovín a všetky hodnoty rozptylu tejto nutričnej zložky sa plne zhodovali s rozsahom publikovaných analýz.

V programe XLSTAT sme štatisticky porovnali rozdiely medzi vzorkami v obsahoch uvedených dvoch parametrov. Výsledky uvádza tabuľka 1. Analýza ukázala štatisticky významné rozdiely medzi jednotlivými vzorkami.

Tabuľka 1 Štatistické hodnotenie rozdielov obsahu bielkovín a tukov u vzoriek polotvrdých syrov

Vzorka	Bielkoviny	Tuk	Hladina významnosti
ET 1	24.537 ^{bc}	25.078 ^{bc}	0,05
ET 2	25.248 ^{ab}	25.719 ^b	0,05
ET 3	23.906 ^{bcd}	24.848 ^{bc}	0,05
ET 5	27.010 ^a	17.573 ^d	0,05
ET 7	23.516 ^{bcd}	25.229 ^{bc}	0,05
ET 9	22.725 ^{cd}	25.829 ^b	0,05
ET 10	23.566 ^{bcd}	23.697 ^c	0,05
ET11	22.134 ^d	30.633 ^a	0,05
ET12	24.737 ^{bc}	29.702 ^a	0,05

Pozn: Rozdielnosť medzi vzorkami vyjadrujú indexy a,b,c,d v rámci stĺpca každého parametra

ZÁVER

V príspevku sme hodnotili vybrané chemické parametre (obsah bielkovín a tuku) a ich variabilitu vo vzorkách polotvrdých syrov holandského typu a typu tehla slovenskej a poľskej výroby. Molekulová spektroskopická metóda NIR sa javila ako vhodná pre rýchle stanovenie viacerých chemických parametrov v syroch, čo bolo potvrdené aj výsledkami štandardných analytických metód. Štatistickou analýzou súboru údajov z analýz sme zistili štatisticky významný rozdiel medzi jednotlivými vzorkami.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-17-0508. Práca bola podporená projektom VEGA 1/0239/21.

LITERATÚRA

- Alinovi, M., Mucchetti, G., & Tidona, F. 2019. Application of NIR spectroscopy and image analysis for the characterisation of grated Parmigiano-Reggiano cheese. In *International Dairy Journal*, vol. 92, pp. 50-58. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.01.010>
- Düsterhöft, Eva -Maria, et al. 2011. *Cheese | Dutch-Type Cheeses in Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*. Cambridge :Academic. Pp. 4170. ISBN 978-0-12-374407-4. Dostupné na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123744074000868>.
- Felfoul, Imene et al. 2015. Low-fat Gouda cheese made from bovine milk-olive oil emulsion: physicochemical and sensory attributes. In *Journal of Food Science and Technology* [online], vol. 52 no. 1, pp. 6749–6755. Dostupné na <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1736-0>
- Ibáñez, Ra et al. 2020. Low- and reduced-fat milled curd, direct-salted Gouda cheese: Comparison of lactose standardization of cheesemilk and whey dilution techniques. In

- Journal of Dairy Science*, vol. 103 no. 2, pp. 1175-1192. Dostupné na <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17292>.
- 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. In *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 15, no. 1, pp. 285-295. Dostupné na <https://doi.org/10.5219/1614>
- Lobato-Calleros, R. et al. 2003. Dynamic rheology of Mexican Manchego cheese-like products containing canola oil and emulsifier blends. In *Food Research International*, vol. 36 no. 1, pp. 81-90. Dostupné na [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00111-4](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00111-4).
- Logan, Amy et al. 2017. Milk fat globule size affects Cheddar cheese properties. In *International Dairy Journal*, vol. 70, no. 1, pp. 46-54. Dostupné na <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.11.003>.
- Madalozzo, E. S., Sauer, E., & Nagata, N. 2015. Determination of fat, protein and moisture in ricotta cheese by near infrared spectroscopy and multivariate calibration. In *Journal of food science and technology*, vol. 52, no. 3, pp. 1649-1655. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1147-z>
- Manuelian, C. L., Currò, S., Penasa, M., Cassandro, M., & De Marchi, M. 2017. Prediction of minerals, fatty acid composition and cholesterol content of commercial cheeses by near infrared transmittance spectroscopy. In *International Dairy Journal*, vol. 71, pp. 107-113. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.03.011>
- Margolies, B. J., & Barbano, D. M. 2018. Determination of fat, protein, moisture, and salt content of Cheddar cheese using mid-infrared transmittance spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, vol. 101, no. 2, pp. 924-933. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13431>
- O'Callaghan, Y. C., O'Connor, T. P., O'Brien, N. M. 2017. Nutritional Aspects of Cheese In Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L. H. *Fundamentals of Cheese Science*, Boston, MA: Springer. ISBN 978-1-4899-7681-9.
- Pritchard, S.R., Phillips, M., Kailasapathy, K. 2010. Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese. In *Food Res Int*, vol. 43, pp. 1545–1548.
- Rashidinejad, Ali et al. 2017. Chapter 14 - Nutrients in Cheese and Their Effect on Health and Disease. In *Nutrients in Dairy and their Implications on Health and Disease*. Cambridge : Academic press. Pp. 490. ISBN 978-0-12-809762-5. Dostupné na <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809762-5.00014-0>
- Vargas-Bello-Pérez, Einar et al. 2020. Consumer knowledge and perceptions of milk fat in Denmark, the United Kingdom, and the United States. In *Journal of Dairy Science*, vol. 103, no. 5, pp. 4151-4163. Dostupné na <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17549>.
- Visconti, L. G., Rodriguez, M. S., & Di Anibal, C. V. 2020. Determination of grated hard cheeses adulteration by near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate analysis. In *International Dairy Journal*, vol. 104, pp. 104647. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104647>
- Walther, Barbara et al. 2008. Cheese in nutrition and health. In *Dairy Science and Technology*, vol. 88, no. 4 -5, pp. 274-281. Dostupné na

<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-57049104653&origin=inward&txGid=09c580c80f80a3e015072a2a846b0070>.

Yates et al. 2007. Texture properties of gouda cheese. In *Journal of Sensory Studies*, vol. 22 no. 5, pp. 493-506. Dostupné na <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2007.00124.x>.

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

**OBSAH A VARIABILITA MASTNÝCH KYSELÍN VO
VYBRANÝCH POLOTVRDÝCH SYROCH TYPU EIDAM**
***CONTENT AND VARIABILITY FATTY ACID CONTENT IN
SELECTED SEMI-HARD CHEESES OF EDAM TYPE***

Jozef Golian, Silvia Jakabová, Lucia Benešová, Kristína Kollárová

Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska
univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovenská republika

SÚHRN

Cieľom tejto štúdie bolo charakterizovať zloženie mastných kyselín a porovnať ich obsah v deviatich polotvrdých syroch, získaných z maloobchodu na Slovensku, pričom analyzované syry typu Eidam a Gouda pochádzali od slovenských a poľských výrobcov. Charakterizácia zloženia mastných kyselín ukázala rozdiely medzi vzorkami v prítomnosti a obsahu jednotlivých mastných kyselín. Nasýtené mastné kyseliny sa pohybovali od 11,47 do 20,69 g.100g⁻¹ tuku, mononenasýtené mastné kyseliny sa pohybovali od 4,72 do 10,15 g.100g⁻¹, polynenasýtené mastné kyseliny od 0,39 do 2,32 g.100g⁻¹, transmastné kyseliny boli v rozmedzí od nedetekovateľných hodnôt po 0,77 g.100g⁻¹, obsah n-3 mastných kyselín sa pohyboval od 0,07 do 0,29 g.100g⁻¹ a n-6 mastných kyselín od 0,26 do 2,26 g.100g⁻¹. Najzastúpenejšími mastnými kyselinami boli zo súboru nasýtených mastných kyselín kyselina palmitová (približne tretinové zastúpenie v podiele mastných kyselín vo vzorkách), a kyselina myristová. Mononenasýtené mastné kyseliny boli reprezentované najmä kyselinou olejovou (približne 20% zastúpenie) a palmitoolejovou a polynenasýtené mastné kyseliny mali najviac zastúpenú kyselinu linolovú. Údaje boli analyzované a vyhodnotené softvérom XLSTAT.

ABSTRACT

The aim of this study was to characterize the fatty acid composition and compare its content in nine semi-hard kinds of cheese, obtained from the retails in the Slovak market in summer 2020. The analyzed cheeses of Edam and Gouda were produced by the Slovak and Polish producers. Characterization of fatty acid composition showed differences between the samples in the presence and content of individual fatty acids. The contribution presents also the variability of fatty acid groups in the cheese samples. Saturated fatty acids ranged from 11.47 to 20.69 g.100g⁻¹ fat, monounsaturated fatty acids ranged from 4.72 to 10.15 g.100g⁻¹, polyunsaturated fatty acids from 0.39 to 2.32 g.100g⁻¹, trans fatty acids were in the range from non-detected values to 0.77 g.100g⁻¹, the content of n-3 fatty acids ranged from 0.07 to 0.29 g.100g⁻¹ and n-6 fatty acids from 0.26 to 2.26 g.100g⁻¹. The most abundant fatty acids from the group of saturated fatty acids were palmitic acid (approximately one-third in the proportion of fatty acids in the samples), and myristic acid. Monounsaturated fatty acids were mainly represented by oleic acid (approximately 20%) and palmitoleic acid and polyunsaturated fatty acids had the most abundant presence of linoleic acid. The data was investigated and evaluated by XLSTAT software.

ÚVOD

Syry sú tuhé alebo polotuhé výrobky, ktoré sa vyrábajú vyzrážaním bielkovín z kravského, kozieho, ale i ovčieho mlieka (v ktorom pomer kazeínu a srvátkových bielkovín nie je vyšší ako pomer týchto bielkovín v prislúchajúcom mlieku), pôsobením syridla, či iných koagulačných činidiel ako je kyselina mliečna, alebo ďalšími technikami spôsobujúcimi koaguláciu bielkovín, či ich kombináciou, pričom ich výsledkom sú charakteristické organoleptické, fyzikálne a chemické zmeny mliečneho výrobku **(Vyhláška č. 343/2016)**.

Eidam, guľa s hmotnosťou 1 alebo 2 kg, bol kedysi vyrábaný zo zmesi odstredeného večerného mlieka a čerstvého ranného mlieka, čo viedlo k asi 40 % obsahu tuku v sušine a syr mal o niečo kratšiu štruktúru ako Gouda a zvyčajne vyzrieval 6 alebo viac mesiacov. S týmto typom súvisí aj mimoleta, intenzívne sfarbená guľa s hmotnosťou 4 kg. Z týchto druhov sa neskôr vyvinula väčšia škála syrov, ktoré sa líšili tvarom, konzistenciou a chuťou. Väčšina moderných druhov má o niečo vyššie pH a obsah vlhkosti, pričom jedným z dôvodov tejto zmeny bolo získanie lepšej kráčajateľnosti vyzretého syra **(Düsterhöft et al., 2016)**.

Bielkoviny pochádzajúce zo syrov sú takmer 100 % stráviteľné, nakoľko postupná hydrolýza kazeínov počas procesu zrenia syra vytvára ľahšie stráviteľné zlúčeniny, ako sú napríklad voľné aminokyseliny a vo vode rozpustné peptidy. Vo všeobecnosti syry holandského typu, teda aj Eidam obsahujú približne 25 g bielkovín na 100 g syru. V princípe platí, že ak sa zvyšuje obsah tuku, klesá obsah bielkovín **(Ash et al., 2010)**.

Obsah mliečnych a teda aj syrových bielkovín a skladba aminokyselinového zloženia sa zvykne líšiť podľa zvierat'a, daného plemena a genetiky. Syntéza týchto bielkovín sa uskutočňuje v mliečnej žľaze **(Davoody et al., 2016)**.

Spolu s pozitívnymi účinkami bielkovín a aminokyselín obsiahnutých v syre sa uvádzajú aj niektoré proteolytické medziprodukty ako napríklad bioaktívne peptidy. Tieto peptidy majú špecifické vlastnosti, ktoré sa podobajú hormónom ako napríklad peptidy schopné upravovať aktivitu nervových a imunodefenzívnych systémov. Pre tieto bioaktívne peptidy bola stanovená široká škála biologických aktivít ako je znižovanie krvného tlaku, antimikrobiálna aktivita, viazania minerálnych látok, bunková modulácia, znižovanie hladiny cholesterolu, imunitná modulácia, ako aj protizápalové, antitrombotické, a antikarcinogénne vlastnosti **(Rosenberg et al., 2015)**.

Tuk je druhou najdominantnejšou zložkou syra a tvorí 20 - 35 % sušiny. Jedna 50 g dávka plnotučného syra je v skutočnosti približne dvoma tretinami odporúčaného denného príjmu tuku pre dospelého človeka **(Walther et al., 2008)**.

Mliečny tuk pozostáva z jednotlivých molekúl mastných kyselín, ktoré sú naviazané na glycerol, pričom najbežnejší tuk je triglycerid (triacylglycerol). Rozmiestnenie mastných kyselín na triglyceridovej kostre ovplyvňuje výživové, fyzikálne a organoleptické vlastnosti mliečneho tuku **(Cheng et al., 2021)**.

Triglyceridy mliečneho tuku sa v mlieku nachádzajú vo forme guľôčok. Tieto guľôčky sú obalené proteínovou a fosfolipidovou membránou, ktorá má za úlohu stabilizovať guľôčky vo vodnej (sérovej) fáze mlieka a tieto membrány predstavujú približne od 2 % do viac ako 6 % hmotnosti guľôčok. Veľkosť natívnych globúl je v rozmedzí 1 – 10 μm . Guľôčky s priemerom 1 – 8 μm tvoria 90 % celkového objemu mliečneho tuku, zatiaľ čo guľôčky s priemerom menej ako 1 μm , ktoré tvoria približne 80 % z celkového počtu guľôčok, vytvárajú najmenšiu časť celkového objemu mliečneho tuku. Tukové guľôčky sa počas procesu zrážania takmer úplne zabudujú do kazeínovej siete a interakcie guľôčok bielkovina-bielkovina a tuk-tuk ovplyvňujú štruktúru a výťažnosť syra **(Martins et al., 2018)**.

Mliečny tuk má široké rozmedzie teploty topenia a k úplnému topeniu dochádza pri teplote 40 °C. Pôsobenie HTST pasterizácie neovplyvňuje výživové a ani funkčné vlastnosti mliečneho tuku,

avšak ošetrovanie mlieka pri vyšších teplotách môže podnecovať oxidačné reakcie, čo môže viesť k degradácii tukov a k tvorbe nepríjemného zápachu. Pri použití UHT pasterizácie však môže dôjsť k narušeniu membránových proteínov guľôčky mliečného tuku a tým ich destabilizovať, čo vedie k zrážaniu samotného tuku (**Ren et al., 2021**).

Priemerný obsah nasýtených mastných kyselín v syrovom tuku je 60 %, zatiaľ čo priemerné množstvo mononenasýtených mastných kyselín je 23 % a polynenasýtených mastných kyselín sú 4 %. Aj keď sa toto zloženie môže mierne kolísať podľa ročných období. Typickým príkladom sú letné mesiace, kedy sa hladina nasýtených mastných kyselín zvyčajne znižujú v prospech nenasýtených mastných kyselín. Kyselina palmitová (16: 0), kyselina myristová (14: 0) a kyselina stearová (18: 0) sú najbežnejšie nasýtené mastné kyseliny, ktoré sa nachádzajú v syroch (**Kliem et al., 2013**).

McCarthy et al. (2017) uvádzajú, že spotrebiteľia sa pri rozhodovaní o nákupe syrov čoraz viac zaujímajú o výživovú kvalitu týchto mliečnych výrobkov. Tento trend neobišiel ani maloobchodné syry, pričom spotrebiteľský záujem zahŕňa aj zloženie mastných kyselín, nakoľko sa na verejnosti čoraz viac objavujú odporúčania a informácie dietológov o bioaktivite konkrétnych mastných kyselín, ktoré majú priaznivý vplyv na ľudské zdravie.

Cieľom príspevku bolo zhodnotiť prítomnosť a variabilitu obsahu mastných kyselín vo vzorkách polotvrdých syrov, získaných z obchodnej siete SR.

MATERIÁL A METODIKA

K hodnoteniu obsahu mastných kyselín a ich variability v syroch typu Eidam sa použilo 9 vzoriek syrov. Z nich 6 vzoriek syrov bolo holandského typu a 3 syry boli typu tehla. Z holandského typu syra sme analyzovali 4 syry typu Eidam a jeden syr typu Gouda. Vzorky boli zakúpené v obchodnej sieti Slovenskej republiky, pričom 7 výrobkov, ktoré boli súčasne našimi vzorkami bolo vyrobených v Slovenskej republike a 2 v Poľsku. LT 1 – Eidam syr, LT 2 – Eidam syr, LT 3 – Eidam syr, LT 5 – Eidamská tehla, LT 7 – Hriňovská tehla, LT 9 - Michalovská tehla, LT 10 – Eidam syr, LT 11 - BIO syrošík, LT 12 – Gouda.

Na stanovenie obsahu mastných kyselín bola použitá metóda plynová chromatografia s plameňovým ionizačným detektorom (GC – FID) podľa normy ISO / IEC 17 025 : 2017. Analýza bola vykonaná v akreditovanom laboratóriu.

Štatistická analýza bola vykonaná v programe Excel so štatistickým softvérom XLSTAT (vs. 2020.3.1) pre Excel. Chemické parametre boli analyzované pomocou deskriptívnej štatistiky (priemery, štandardné odchýlky, minimálne, maximálne hodnoty) a výsledky boli vizualizované v boxploch.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

McCarthy et al. (2017) vo svojej štúdií rozoberajú aj potenciálnu zmenu zloženia mastných kyselín mliečnych výrobkov, ktorý je do značnej miery určený lipolýzou a biohydrogenáciou lipidov v kravskom bachore, pričom je zaujímavé, že **Vargas-Bello-Perez et al. (2017)** uvádzajú, že aj samotný režim kŕmenia značne ovplyvňuje profil mastných kyselín syrov a ďalej konštatujú, že hovädzí dobytok kŕmený krmivami na pastvinách obvykle dosahuje vyšší obsah nenasýtených mastných kyselín, čo potvrdzuje aj fakt, že čerstvá tráva je bohatá na polynenasýtené mastné kyseliny.

Tabuľka 1 Obsah mastných kyselín vo vzorkách syrov typu Eidam stanovených GC-FID analýzou

Zložky		ET 1		ET 2		ET 3		ET 5		ET 10		ET12		ET 7		ET 9		ET11	
		$\bar{x}$	$\pm$ SD	$\bar{x}$	$\pm$ SD	$\bar{x}$	$\pm$ SD	$\bar{x}$	$\pm$ SD	$\bar{x}$	$\pm$ SD	$\bar{x}$	$\pm$ SD	$\bar{x}$	$\pm$ SD	$\bar{x}$	$\pm$ SD	$\bar{x}$	$\pm$ SD
Nasýtené MK	Kyselina butánová	3,82	0,24	4,20	0,27	3,79	0,24	4,07	0,26	3,85	0,25	3,92	0,25	ND	ND	3,67	0,23	3,80	0,24
	Kyselina kaprónová	2,28	0,15	2,47	0,16	2,28	0,15	2,45	0,16	2,36	0,15	2,38	0,15	ND	ND	2,26	0,15	2,30	0,15
	Kyselina kaprylová	1,35	0,09	1,43	0,09	1,37	0,09	1,44	0,09	1,42	0,09	1,41	0,09	ND	ND	1,35	0,09	1,34	0,09
	Kyselina kaprinová	3,06	0,20	3,08	0,20	3,14	0,20	3,16	0,20	3,22	0,21	3,19	0,20	ND	ND	3,13	0,20	3,03	0,19
	Kyselina laurová	3,54	0,23	3,52	0,23	3,63	0,23	3,56	0,23	3,69	0,24	3,67	0,23	ND	ND	3,70	0,24	3,53	0,23
	Kyselina myristová	11,19	0,72	11,71	0,75	11,38	0,73	11,60	0,74	11,44	0,73	11,46	0,73	1,29	0,08	11,19	0,72	12,10	0,78
	Kyselina pentadekánová	1,35	0,09	1,27	0,08	1,30	0,08	1,22	0,08	1,31	0,08	1,30	0,08	ND	ND	1,39	0,09	1,56	0,10
	Kyselina palmitová	33,71	2,16	31,11	1,99	31,17	2,00	30,37	1,95	31,99	2,05	32,52	2,08	40,70	2,61	37,75	2,42	33,81	2,17
	Kyselina heptadekánová	0,57	0,04	0,60	0,04	0,58	0,04	0,60	0,04	0,56	0,04	0,59	0,04	ND	ND	0,52	0,03	0,65	0,04
	Kyselina stearová	8,50	0,54	10,38	0,66	9,86	0,63	11,01	0,71	9,30	0,60	9,97	0,64	4,71	0,30	7,07	0,45	9,62	0,62
Monenas. MK	Kyselina myristolejová	1,17	0,08	1,24	0,08	1,04	0,07	1,09	0,07	1,10	0,07	1,12	0,07	ND	ND	1,29	0,08	1,06	0,07
	Kyselina palmitolejová	2,46	0,16	2,19	0,14	2,15	0,14	2,12	0,14	2,21	0,14	2,23	0,14	ND	ND	2,74	0,18	2,01	0,13
	Kyselina olejová	20,94	1,34	21,04	1,35	21,39	1,37	21,54	1,38	20,76	1,33	20,51	1,31	41,14	2,64	18,80	1,20	19,29	1,24
	Kyselina asklepová	0,86	0,06	0,50	0,03	0,80	0,05	0,60	0,04	0,83	0,05	0,82	0,05	0,72	0,05	0,85	0,05	ND	ND
Transmas. kys.	Kyselina vakeénová	1,05	0,07	2,43	0,16	1,50	0,10	2,25	0,14	1,13	0,07	1,07	0,07	ND	ND	0,64	0,04	2,13	0,14
Polynenas. MK	Kyselina elaidová	0,81	0,05	ND	ND	0,95	0,06	ND	ND	1,01	0,06	ND	ND	ND	ND	0,74	0,05	ND	ND
	Kyselina linolová	2,20	0,14	1,41	0,09	2,52	0,16	1,57	0,10	2,57	0,16	1,97	0,13	9,40	0,60	1,93	0,12	1,50	0,10
	Kyselina alfa-linolénová	0,70	0,04	0,86	0,06	0,66	0,04	0,76	0,05	0,62	0,04	0,63	0,04	ND	ND	ND	ND	1,00	0,06

Pozn: SD-smerodajná odchýlka, ND – obsah pod hranicou detekcie

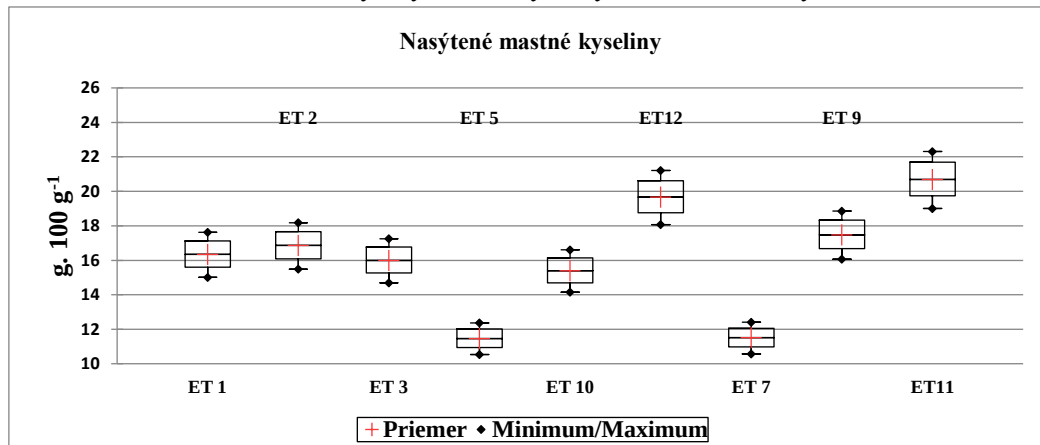
V Tab. 1 sú uvedené hodnoty priemerného obsahu analyzovaných mastných kyselín spolu s ich smerodajnou odchýlkou. Najzastúpenejšia mastná kyselina v našom súbore vzoriek bola nasýtená mastná kyselina, kyselina palmitová, ktorá tvorila približne tretinu skladby mastných kyselín v našich vzorkách. Druhou najčastejšie sa vyskytujúcou mastnou kyselinou bola mononenасыtená mastná kyselina, kyselina olejová, pričom tá tvorila približne 20 % tuku. Treťou najzastúpenejšou mastnou kyselinou bola nasýtená mastná kyselina, kyselina myristová, ktorá tvorila približne 11 % tuku. V poradí štvrtou, najčastejšie sa vyskytujúcou mastnou kyselinou bola kyselina stearová.

K vyššie popísaným zisteniam však nemožno zaradiť vzorku ET7. V tej na rozdiel od ostatných vzoriek dominovala so 41 % podielom v tuku mononenасыtená mastná kyselina, kyselina olejová. Hneď po nej, nasledovala mononenасыtená transmastná kyselina palmitová a treťou najzastúpenejšou mastnou kyselinou bola kyselina stearová. Predpokladáme, že tieto skutočnosti boli zapríčinené prídavkom palmového rastlinného tuku, ktorý tvoril až 25 % zložiek syra (podľa etikety produktu), čo sa odzrkadlilo aj na samotnej skladbe mastných kyselín.

McSweeney et al. (2004) uvádzajú, že počas štúdie v priebehu zrenia všetky vzorky polotvrdých holandských syrov vykazovali postupný nárast nižších, stredných a vyšších mastných kyselín. Nenasýtené mastné kyseliny ako je kyselina olejová sa taktiež zvýšili vo všetkých vzorkách pričom obsah kyseliny linolovej dosiahol klesajúci trend počas celej doby zrenia a obsah kyseliny olejovej v syre Gouda stúpa až do obdobia zrenia 2 mesiacov. **Indumathi et al. (2015)** vo svojej štúdií zaoberajúcej sa profilom mastných kyselín zistili, že obsah kyseliny butánovej v priebehu zrenia rástol, pričom priemerný obsah tejto kyseliny sa ustálil na približne 4,2 g.100 g⁻¹ tuku. Kyselina kaprónová dosahovala priemernú hodnotu v holandských polotvrdých syroch približne 3,1 g.100 g⁻¹ tuku, kyselina kaprylová 1,8 g.100 g⁻¹ tuku zatiaľ čo obsah kyseliny kaprinovej sa pohyboval v priemere okolo 3,1 g.100 g⁻¹ tuku a obsah kyseliny laurovej okolo 3,5 g.100 g⁻¹ tuku. Na rozdiel od týchto kyselín, bol obsah mastných kyselín, kyseliny myristovej, palmitovej a stearovej niekoľkonásobne vyšší, pričom kyselina myristová tvorila približne 11,7 g.100 g⁻¹ tuku a kyselina stearová 10,5 g.100 g⁻¹ tuku, zatiaľ čo až tretinu mastných kyselín tvorila kyselina palmitová (30,1 g.100 g⁻¹ tuku) čo plne súhlasí aj s výsledkami našich analýz. Z nenasýtených mastných kyselín v štúdií polotvrdých syrov, ktorú uvádzajú **Collins et al. (2003)** jednoznačne dominovala kyselina olejová, ktorá bola druhou najrozšírenejšou mastnou kyselinou vo vzorkách

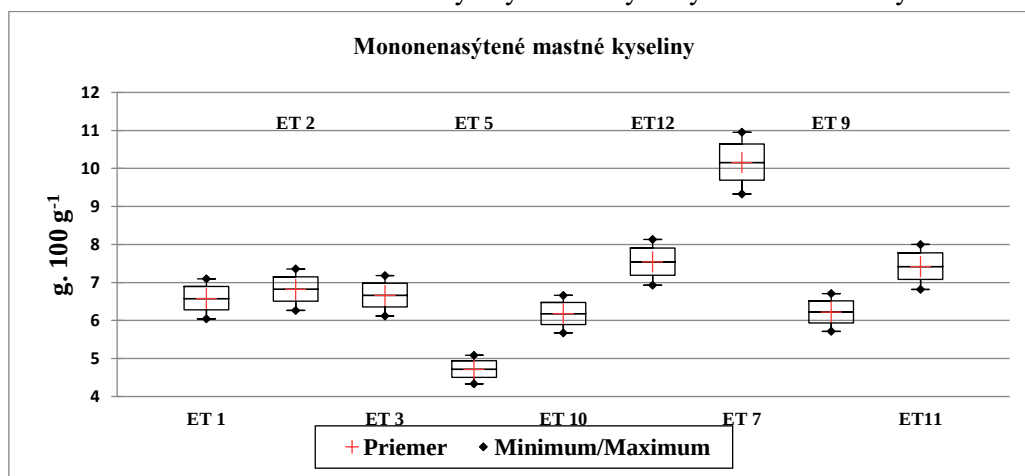
analyzovaných v tejto štúdií a jej priemerné hodnoty obsahu boli 20,8 g.100 g⁻¹ tuku. Pomerne nižšie priemerné hodnoty obsahu sa objavili u kyseliny linolovej, ktoré tvorila približne 2,1 g.100g⁻¹ tuku vo vzorkách a kyselín vakcénovej a elaidovej, ktorých obsah dosahoval hodnoty približne 1 g.100 g⁻¹ tuku.

Obr. 1 Variabilita obsahu nasýtených mastných kyselín u vzoriek syrov



Obr. 1 uvádza obsahy nasýtených mastných kyselín z GC-FID analýzy. Z boxplotov vyplýva, že najviac nasýtených mastných kyselín je zastúpených vo vzorke ET11 a najmenej mastných kyselín je zastúpených vo vzorkách ET5 a ET7. Podobnú koncentráciu nasýtených mastných kyselín majú podľa obr. 1 vzorky ET1, ET2 a ET3, ktorých priemerný obsah nasýtených mastných kyselín spadá do intervalu od 16 g.100 g⁻¹ tuku do 18 g.100 g⁻¹ tuku. Porovnateľné výsledky zistili aj **Koman-Rajšpl et al. (2000)**, ktorí skúmali obsah nasýtených mastných kyselín v holandských typoch syra. Vo svojej štúdií taktiež uvádzajú, že nasýtené mastné kyseliny tvorili najväčšie percento z celého profilu mastných kyselín (až 55 %), pričom len priemerný obsah kyseliny palmitovej bol 28 g.100 g⁻¹ tuku. Ďalšími, najčastejšie sa vyskytujúcimi nasýtenými mastnými kyselinami boli kyselina stearová, ktorá tvorila 9,4 g.100 g⁻¹ tuku a kyselina myristová, s priemerným podielom 11,3 g.100 g⁻¹ tuku.

Obr. 2 Variabilita obsahu mononenasýtených mastných kyselín u vzoriek syrov

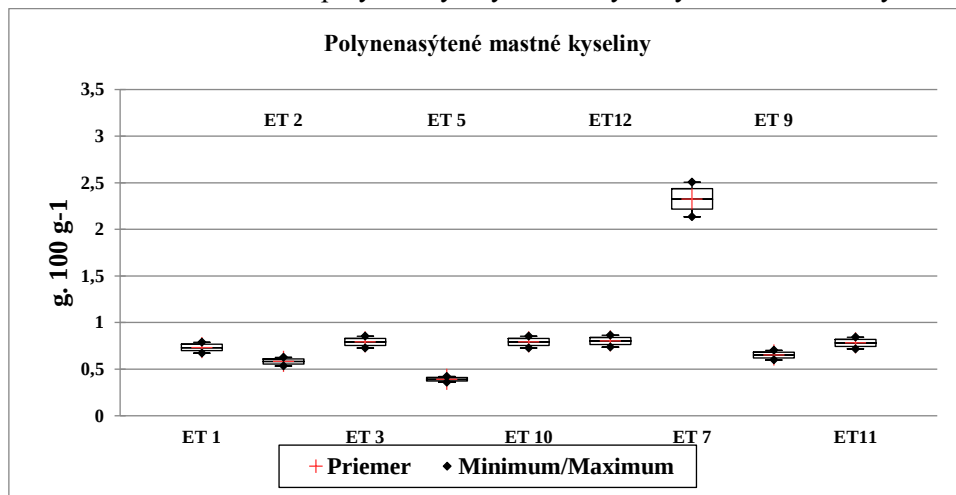


Na obrázku 2 uvádzame priemerné obsahy mononenasýtených mastných kyselín v analyzovaných vzorkách a ich variabilitu medzi jednotlivými vzorkami. Z výsledkov analýz vyplýva, že výrazne najvyšší obsah mononenasýtených mastných kyselín sa nachádzal vo vzorke

ET7. Najnižší podiel mononenasýtených mastných kyselín bol stanovený vo vzorke ET5. U vzoriek ET1, ET2, ET3, ET10 a ET9 sa priemerné hodnoty obsahu mononenasýtených mastných kyselín vyskytovali v intervale od 6 g.100 g⁻¹ tuku do 7 g. 100 g⁻¹ tuku.

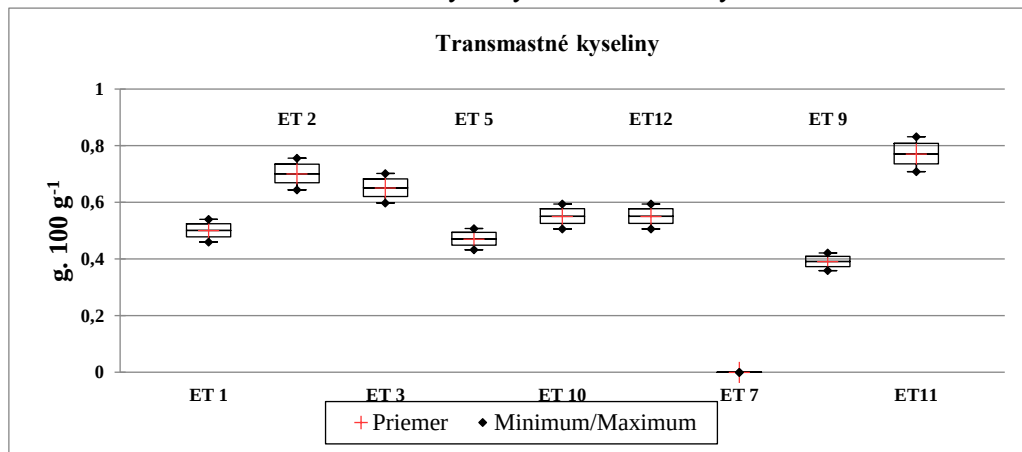
Štúdie **Tungjaroenchaia et al. (2004)** uvádzajú, že pri mononenasýtených mastných kyselinách jednoznačne dominovala kyselina olejová, ktorá bola druhou najčastejšie sa vyskytujúcou mastnou kyselinou v celom profile, pričom tvorila až jeho pätinový podiel z obsahu tuku (22 %).

Obr. 4 Variabilita obsahu polynenasýtených mastných kyselín u vzoriek syrov



Obr. 3 uvádza obsah polynenasýtených mastných kyselín v analyzovaných vzorkách. Z grafu vyplýva, že výrazne najvyšší obsah polynenasýtených mastných kyselín sa nachádzal vo vzorke ET9. Najnižší podiel polynenasýtených mastných kyselín bol vo vzorke ET5. Obrázok uvádza aj podobnosť medzi vzorkami ET1, ET2, ET3, ET10, ET12, ET9, ET11 čo dokazuje skutočnosť, že priemerný obsah polynenasýtených mastných kyselín spolu s ich relatívnou odchýlkou spadá do intervalu 0,5 g.100 g⁻¹ tuku do 1 g. 100 g⁻¹ tuku. Ak sa pozrieme na obsah polynenasýtených mastných kyselín z celkového profilu mastných kyselín, tak tvorili len jeho veľmi nízky podiel, pričom priemerná hodnota kyseliny linolovej bola 2,76 g.100 g⁻¹ tuku a kyseliny alfa linolénovej 0,75 g.100 g⁻¹ tuku avšak v prípade vzoriek ET7 a ET9 bol obsah tejto mastnej kyseliny pod hranicou stanoviteľnosti, čo potvrdil aj výskum **Indumathi et al. (2015)** ktorý uvádza, že priemerný obsah týchto mastných kyselín je pod 1,6 %.

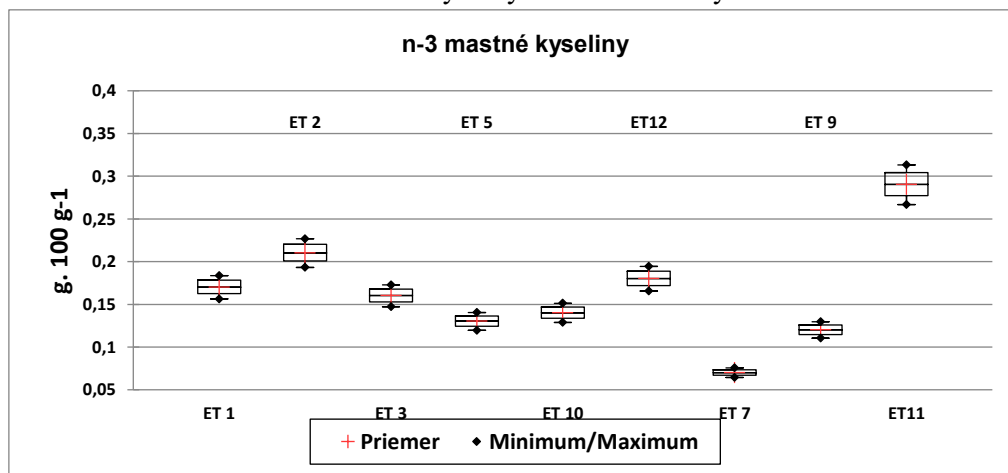
Obr. 4 Variabilita obsahu transmastných kyselín u vzoriek syrov



Obrázok 4 uvádza výsledné hodnoty obsahu transmastných kyselín u analyzovaných vzoriek. Z transmastných kyselín boli zastúpené najmä kyselina vakcénová a kyselina elaidová. Najvyšší obsah transmastných kyselín mala vzorka ET1. Najnižšie zastúpenie bolo vo vzorke ET11. Podobné hladiny transmastných kyselín mali vzorky ET1, ET5, ET10, ET12, s priemerným obsah transmastných kyselín v intervale $0,4 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ do $0,6 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Transmastné kyseliny tvorili len minimálny podiel celkových mastných kyselín, čo súhlasí aj s výsledkami **Tungjaroenchai et al. (2004)**, ktorí zistili, že priemerný obsah transmastných kyselín v polotvrdých syroch bol $0,57 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ tuku.

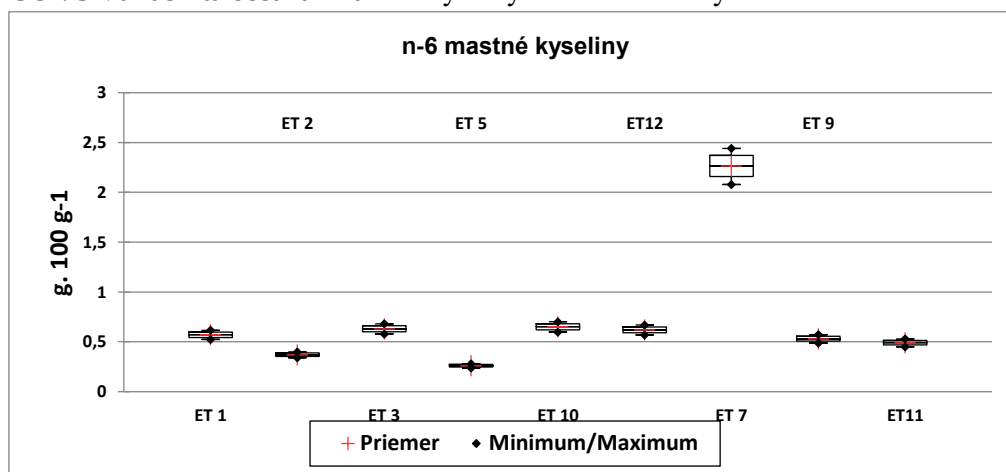
Obrázok 5 znázorňuje obsah n–3 mastných kyselín. Z výsledkov vyplýva, že najvyššiu hodnotu obsahu n–3 mastných kyselín obsahovala vzorka ET11 a najnižšia hodnota bola vo vzorke ET7. Podobné obsahy boli zistené v prípadoch vzoriek ET1, ET3 a ET5, kde priemerná hodnota obsahu n–3 mastných kyselín spadala do intervalu od $0,15 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ do $0,2 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Výsledky našej analýzy sú v súlade s výsledkami **Koman Rajšp et al. (2000)**, ktorí uvádzajú, že priemerný obsah n–3 mastných kyselín v polotvrdých syroch je $0,18 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ tuku a priemerný obsah n–6 mastných kyselín v týchto druhoch syra je približne $0,79 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

Obr. 5 Variabilita obsahu n–3 mastných kyselín u vzoriek syrov



Obsah n–6 mastných kyselín znázorňuje obr. 6. Najvyššie hladiny n–6 mastných kyselín je zastúpených vo vzorke ET7, pričom najmenšie zastúpenie n–6 mastných kyselín bolo vo vzorke ET5. Podobnosť v obsahu n–6 mastných kyselín nastal v štyroch prípadoch, kedy priemerný obsah týchto mastných kyselín vo vzorkách ET1, ET3, ET10, ET12 a ET9 spadla do intervalu od $0,5 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ do $1 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

Obr. 5 Variabilita obsahu n–6 mastných kyselín u vzoriek syrov



ZÁVER

Príspevok rozoberá charakteristiku vybraných vzoriek syrov holandského typu a typu tehla z hľadiska zloženia mastných kyselín a ich variability. Charakterizácia zloženia mastných kyselín ukázala rozdiely medzi vzorkami v prítomnosti a obsahu jednotlivých mastných kyselín. Obsah a variabilita jednotlivých skupín mastných kyselín bola prezentovaná pre sumu nasýtených mastných kyselín, mononenasýtených mastných kyselín, polynenasýtených mastných kyselín a n-3 a n-6 mastných kyselín vo vzorkách syrov. Nasýtené mastné kyseliny sa pohybovali od 11,47 do 20,69 g.100g⁻¹ tuku, mononenasýtené mastné kyseliny sa pohybovali od 4,72 do 10,15 g.100g⁻¹, polynenasýtené mastné kyseliny od 0,39 do 2,32 g.100g⁻¹, transmastné kyseliny boli v rozmedzí od nedetekovateľných hodnôt po 0,77 g.100g⁻¹, n-3 mastných kyselín od 0,07 do 0,29 g.100g⁻¹ a n-6 mastných kyselín od 0,26 do 2,26 g.100g⁻¹.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-17-0508. Práca bola podporená projektom VEGA 1/0239/21.

LITERATÚRA

- Ash, Anthony et al. 2010. The nutritional significance of cheese in the UK diet. In *International Journal of Dairy technology* [online], vol. 63, no. 3, pp. 305-319. Dostupné na <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00606.x>.
- Collins, Yvonne et al. 2003. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. In *International Dairy Journal* [online], vol. 13 no. 11, pp. 841-866. Dostupné na [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\) 00109-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03) 00109-2).
- Davoodi Seyed Hosseyn et al. 2016. Health-Related Aspects of Milk Proteins. In *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* [online], vol. 15, no. 3, pp. 573–591. Dostupné na <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/ articles/PMC5149046/>.
- Düsterhöft, Eva – Maria. et al. 2016. Cheese: Dutch-Type Cheeses. In *Reference Module in Food Science*. Boston : Elsevier, pp. 721-727. ISBN 978-0-08-100596-5. Dostupné na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978008100596500 6685>.
- Cheng, Weihua et al. 2021. A novel approach for modulating the spatial distribution of fat globules in acid milk gel and its effect on the perception of fat-related attributes. In *Food*

- Research International* [online], vol. 140, no. 1, pp. 562-574. Dostupné na <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109990>.
- Indumathi, K. et al. 2015. Evaluation of iron fortified Gouda cheese for sensory and physicochemical attributes. In *Journal of Food Science and Technology* [online], vol. 52 no. 1, pp. 493-499. Dostupné na <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1006-y>.
- Kliem, Kirsty et al. 2013. Seasonal variation in the fatty acid composition of milk available at retail in the United Kingdom and implications for dietary intake. In *Food Chemistry* [online], vol. 141, no. 1, pp. 274-281. Dostupné na <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.116>.
- Koman Rajšp et al. 2000. Fatty acid composition of edam, emmental and gouda cheeses produced in slovenia in autumn 1997. In *Food Science and technology* [online], vol. 24 no. 1, pp. 456-460. Dostupné na https://www.researchgate.net/profile/Vekoslava-stibilj/publication/242149506_fatty_acid_composition_of_edam_emmental_and_gouda_cheeses_produced_in_slovenia_in_autumn_1997/links/551402990cf23203199cd218/fatty-acid-composition-of-edam-emmental-and-gouda-cheeses-produced-in-slovenia-in-autumn-1997.pdf.
- Martins, Fernanda et al. 2018. Analytical methods in food additives determination: Compounds with functional applications. In *Journal of Food Chemistry* [online], vol. 272, no. 1, pp. 732-750. Dostupné na <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30309605/>.
- McCarthy, Catherine et al. 2017. Effect of fat and salt reduction on the changes in the concentrations of free amino acids and free fatty acids in Cheddar-style cheeses during maturation. In *Journal of Food Composition and Analysis* [online], vol. 59 no. 1, pp. 132-140. Dostupné na <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.01.007>.
- McSweeney, Paul. 2004. Biochemistry of cheese ripening. In *International Journal of Dairy Technology* [online], vol. 57, no. 3, pp. 127-144. Dostupné na <https://chemport.cas.org/cgi-bin/sdcgi?APP=ftslink&action=reflink&origin=npg&version=1.0&coi=1%3ACAS%3A528%3ADC%2BD2cXlt1eqs7k%3D&md5=22472dc0c4775cf6f91a48044dc610a4>.
- Ren, Qingxi et al. 2021. A novel approach for the reconstitution of bovine milk fat globules with different-melting-temperature triacylglycerol cores. In *Food Chemistry* [online], vol. 345, no. 1, pp. 128-198. Dostupné na <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128563>.
- Rosenberg, Serge et al. 2016. Effects of Dairy Products Consumption on Health: Benefits and Beliefs—A Commentary from the Belgian Bone Club and the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases. In *Calcified Tissue International* [online], vol. 98, no. 1, pp. 1-17. Dostupné na <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84953355966&origin=inward&txGid=be14c2adf611ba75a9fc9850086ef41>.
- Tungjaroenchai et al. 2004. Influence of Adjunct Cultures on Volatile Free Fatty Acids in Reduced-Fat Edam Cheeses. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 87 no. 10, pp. 3224-3234. Dostupné na <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002203020473458X>.
- Vargas-Bello-Perez, E. et al. 2017. Impacts of fat from ruminants' meat on cardiovascular health and possible strategies to alter its lipid composition. In *Science of Food and Agriculture* [online], vol. 97 no. 7, pp. 1969-1978. Dostupné na <https://doi.org/10.1002/jsfa.8168>.
- Vyhľáška č. 343/2016 Z. z. Vyhľáška Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky o niektorých výrobkoch z mlieka.
- Walther, Barbara et al. 2008. Cheese in nutrition and health. In *Dairy Science and Technology* [online], vol. 88, no. 4 - 5, pp. 274-281. Dostupné na <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-57049104653&origin=inward&txGid=09c580c80f80a3e015072a2a846b0070>.

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

P7

Vliv reformulace čerstvých nezrajících sýrů na profil těkavých a senzoricky aktivních látek

Influence of fresh unripened cheese reformulation on the profile of volatile and sensory active compounds

Hanková M., Málková M., Čížková H., Kružík V., Rajchl A.

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

Souhrn

Snižování obsahu soli v potravinách patří mezi současné národní i mezinárodní cíle. Sůl ale hraje v technologii sýrů významnou roli. Podílí se na výsledné konzistenci, textuře, trvanlivosti, chuti i vůni. Tyto atributy patří mimo ceny mezi hlavní kritéria pro spotřebitele a výrobci proto musejí hledat takové postupy, které povedou k akceptovatelným výrobkům. V této práci bylo analyzováno 12 vzorků reformulovaných čerstvých nezrajících sýrů pro jejich obsah soli a profil a relativní zastoupení těkavých látek. Následně byly dva vybrané vzorky (nesolený a solený 7 h, skladované 39 dní) analyzovány pomocí olfaktometrie a byl zhodnocen příspěvek jednotlivých senzoricky aktivních látek k vůni výrobků.

Abstract

Reducing the salt content of food is one of the current national and international goals. But salt plays an important role in cheese technology. It contributes to the final consistency, texture, durability, taste and smell. These attributes are among the main criteria for consumers (together with the price), and manufacturers must therefore look for practices that lead to acceptable products. In this work, 12 samples of reformulated fresh unripened cheeses were analyzed for their salt content and profile and relative presence of volatile substances. Subsequently, two selected samples (unsalted and salted for 7 h, stored for 39 days) were analyzed by olfactometry and the contribution of individual sensory active substances to the odor of the products was evaluated.

Klíčová slova: reformulace, sýry, těkavé látky, olfaktometrie, GC-MS

Úvod

Zvýšená konzumace soli přispívá k vysokému krevnímu tlaku a zvyšuje riziko cévních onemocnění, která mohou za největší procento úmrtí lidské populace (WHO, 2020). Dospělý člověk má v České republice příjem soli až 3x vyšší (8-17 g/den) než je doporučené denní množství (5 g) (Hygienická stanice ČR, 2022). Světová zdravotnická

organizace (WHO) se snaží proti tomuto trendu bojovat a za tímto účelem vydala v roce 2021 nový soubor globálních referenčních hodnot pro hladiny sodíku ve více než 60 kategoriích potravin. Tyto globální standardy mají napomoci zemím snížit obsah sodíku ve zpracovaných potravinách na uvedené hodnoty. Například pro čerstvé nezrající sýry je cílem dosáhnout 520 mg soli/ 100g, při čemž v ČR je průměrný obsah soli 1 g soli /100g čerstvého sýra (Němečková et al., 2020; WHO, 2021).

Snížování obsahu soli a tedy výroba tzv. reformulovaných sýrů je náročný proces, jelikož sůl zajišťuje u výrobků určité fyzikálně-chemické a technologické (např. textura, trvanlivost) a sensorické vlastnosti (chuť, vůně). Příjemné sensorické vlastnosti jsou stěžejním pilířem pro úspěch těchto výrobků na trhu. Tato práce se zabývá analýzou těkavých a sensoricky aktivních látek čerstvých nezrajících sýrů ve vztahu k jejich době solení a skladování.

Materiál a metody

Celkem bylo analyzováno 12 vzorků reformulovaných čerstvých nezrajících sýrů typu Vezír (viz. Tabulka 1) (standardní doba solení 7h) pro jejich obsah soli a profil těkavých látek. Vzorky byly soleny 0 h, 2h a 7h a následně skladovány při 4°C 4, 11, 25 nebo 39 dnů do analýzy. 2 vzorky skladované 39 dní, nejméně solený (1d) a nejvíce solený (5d) byly následně analyzovány olfaktometricky.

Tabulka 4: Analyzované vzorky

Doba skladování do rozboru	Doba solení		
	0 h	2 h	7 h
4 dny	1a)	3a)	5a)
11 dní	1b)	3b)	5b)
25 dní	1c)	3c)	5c)
39 dní	1d)*	3d)	5d)*

*vzorky podrobeny olfaktometrické analýze

Stanovení soli

Obsah soli byl stanoven metodou AAS (Agilent Technologies, 240FS AA) přes obsah sodíku. 5g vzorku bylo spáleno v muflové peci při 525°C a popel byl rozpuštěn ve 3 ml roztoku 1M HCl. K vzorku byly přidány 2 ml směsi deionizačního a uvolňovacího činidla (10 g/l CsCl + 100 g/l La) a směs byla nadávkována do atomového absorpčního spektrofotometru. Pomocí směsi standardů byl vypočítán výsledný obsah soli. Vzorky byly měřeny ve dvou paralelních měřeních.

Stanovení těkavých a senzoricky aktivních látek - podmínky

Pomocí přístroje SPME-GC-MS/O (GC-Autosampler CTC Analytics, Pal systém; plynový chromatograf Agilent 7890, hmotnostní detektor Agilent 5977 A (inert MSD with Triple-Axis Detector) a Olfaktometr JAS) byl stanoven profil těkavých látek a identifikovány senzoricky aktivní látky. Bylo použito 75 µm 24 Ga CAR/PDMS vlákno a polární kolona VF-WAX MS (30 m x 250 µm x 0,25 µm). Metoda vycházela z literatury (Arora et al., 1995; Hayaloglu & Karabulut, 2013; Salum et al., 2017) a její podmínky byly následující: Do 10ml SPME vialky byly naváženy 3 g nastrohaného vzorku. Po 20 min preinkubaci následovala 30 min ekvibrace a extrakce při 40°C s mícháním 250 rpm. Nástřik probíhal v módu splitless. Následovala 3min desorpce při 250°C do GC s mobilní fází He (průtok 1,4ml/min). Program analýzy byl následující: výdrž 40 °C po 2 min, poté pokračoval nárůst 5 °C/min na 70 °C s výdrží 1 min a poté následoval nárůst 10 °C/min na 240 °C a výdrž 4 min. Split mezi MS a olfaktometr byl 1:5 a teplota MS byla 250°C a O 180°C. Byl použit zvlhčovač vzduchu k olfaktometru. Jednotlivé sloučeniny byly identifikovány na základě srovnání s NIST knihovnou hmotnostních spekter (NIST 14), pomocí Kovatsových retenčních indexů RI (porovnání s literárními daty a s vypočtenými RI na základě proměřených C5-C8 a C8-C20 řad alkanů).

Testování a výběr hodnotitelů pro olfaktometrickou analýzu

12 dobrovolníků z řad zaměstnanců a studentů na ÚKP VŠCHT Praha bylo otestováno pomocí sady čichacích fixů (Olfasense, 9 fixů, specifikace viz Tabulka 2). Testování se skládalo ze dvou částí. V první části měli hodnotitelé přiřazovat k fixům vůni z nabídnutého seznamu a zároveň zaznamenávali její příjemnost a známost. O den až tři později dostali tentýž test, ale tentokrát bez nápovědy charakteru vůně.

Tabulka 5: Specifikace sady čichacích fixů firmy Olfasense

Kód fixu	Název sloučeniny	Slovní popis aroma
159	3-methylbutanal	Kakaové, aroma potu, sýrové (<i>cacao, sweaty, cheesy</i>)
165	Acetaldehyd	Ovocné, sladké, štiplavé (<i>fruity, sweet, pungent</i>)
228	Kyselina hexanová	Kozí, aroma potu, animální, štiplavé (<i>goatlike, sweaty, animalistic, pungent</i>)
241	Oktanal	Citrusové (<i>citrusy</i>)
272	Diacetyl	Máslová příchut' (<i>butter-like flavour</i>)
514	Kyselina máselná	Aroma potu, sýrové (<i>sweaty, cheesy</i>)
520	Ethyl acetát	Lepidlo, odlakovač na nehty (<i>glue, nail polish remover</i>)
676	Hexanal	Zelené, trávové, žluklé (<i>green, grassy, rancid</i>)
934	Nonanal	Citrusové, pomerančové (<i>citrusy, orange</i>)

Z provedeného testování bylo pro olfaktometrickou analýzu vybráno 6 hodnotitelů, kteří byli schopni identifikovat alespoň 50 % předložených vůní. Těchto 6 hodnotitelů

analyzovalo vzorky (1d) a (5d) pomocí metody detekce frekvence (NIF), při čemž jeden hodnotitel analyzoval vzorky dvakrát pro kontrolu, celkový počet hodnocení byl tedy 7.

Výsledky a Diskuze

Výsledky stanovení obsahu soli jsou uvedeny v posledním řádku Tabulky 3. Vzorky, které nebyly solené v solné lázni, obsahovaly 0,2-0,3 g soli /100g, solené 2h 2,1-2,2/100g, a solené 7h 3,1 g/100g. Tabulka 3 dále znázorňuje relativní zastoupení 22 identifikovaných majoritních těkavých látek (látky s píky většími než 15×10^4) a látek úzce spojených s vůní mléčných výrobků (dimethyl sulfid, 3-methylbutanal). Ve většině případů patřily identifikované látky k běžnému aroma mléčných výrobků pocházejících z mléka, či vznikajících během zpracování a skladování produktů. Ve vzorcích se v největší míře vyskytoval acetoin, následovaný kyselinou octovou, až na vzorek 3d), ve kterém převažoval ethanol nad acetoinem. Tento rozdíl může být způsobený činností aktuálně přítomných mikroorganismů v surovině a vlivem prostředí výroby.

Tabulka 6: Vybrané těkavé látky reformulovaných sýrů

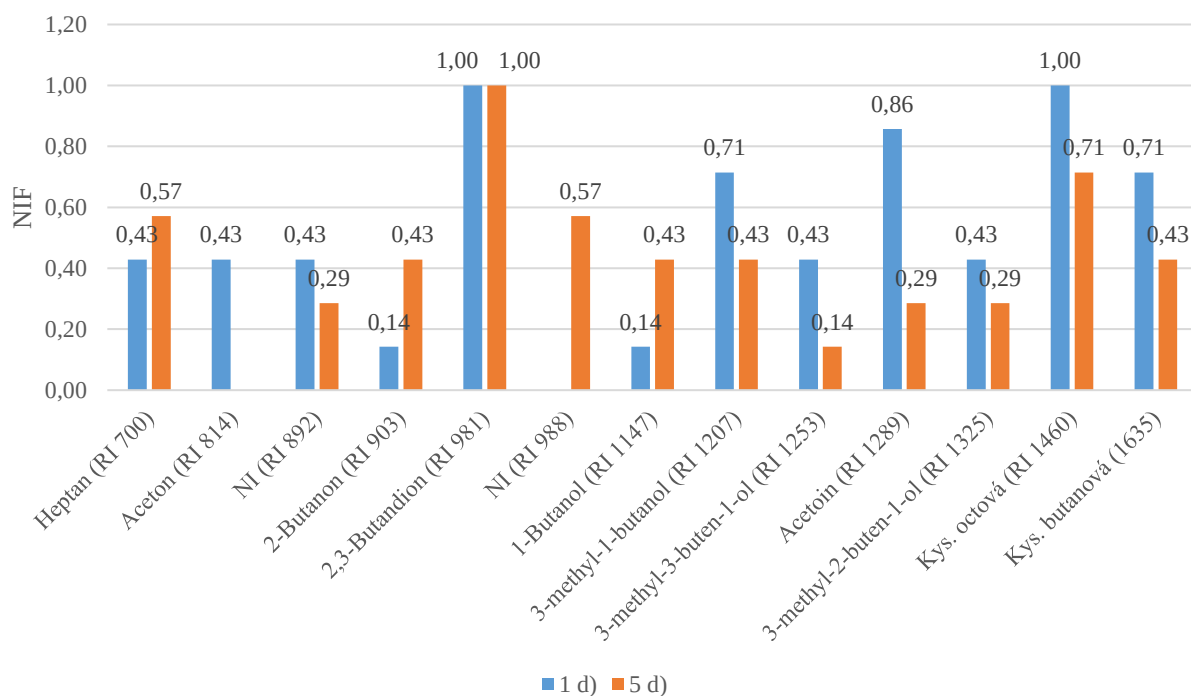
Tr (min)	RI (vypočtený)	látka	Relativní zastoupení látek											
			zrání 4 dny			zrání 11 dní			zrání 25 dní			zrání 39 dní		
			1a)	3a)	5a)	1b)	3b)	5b)	1c)	3c)	5c)	1d)	3d)	5d)
2,5	700	heptan	0,43	0,26	3,21	0,33	0,26	2,11	0,32	0,28	1,93	0,31	ND	ND
2,7	743	dimethyl sulfid	0,14	0,27	0,19	0,12	0,18	0,17	0,18	0,17	0,21	0,13	0,35	0,21
2,8	765	methyl cyklohexan	0,18	0,28	0,32	0,25	0,27	0,30	0,25	0,26	0,49	0,32	0,38	0,48
3,0	802	1,4-dimethyl hexan	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,35	ND	ND	ND	ND	ND
3,1	814	aceton	2,37	2,76	2,84	2,32	2,29	2,56	1,90	2,51	3,31	1,22	3,87	2,77
3,3	836	2-okten	ND	ND	ND	0,17	ND	ND	0,17	ND	0,32	0,26	ND	0,39
3,7	882	ethyl acetát	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,64	ND
3,8	892	oktyl ester kys. octové	0,17	ND	ND	0,23	ND	ND	0,25	ND	ND	ND	ND	ND
3,9	903	2-butanon	4,46	5,41	4,05	3,75	4,77	3,12	4,83	6,01	3,76	3,39	5,87	3,48
4,1	919	3-methylbutanal	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,26
4,2	927	Isopropyl alkohol	0,72	1,16	0,39	0,97	1,79	0,37	0,82	2,13	0,39	0,26	2,02	0,38
4,3	930	ethanol	2,72	3,66	4,95	3,18	4,99	3,82	3,28	5,68	3,53	1,88	36,21	2,50
5,1	981	2,3-butandion	4,12	6,43	7,15	3,94	6,21	6,35	3,93	7,06	7,49	4,13	2,41	5,30
5,2	988	3-methyl-2-butanon	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,48

5,9	1023	2-butanol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,95	ND
10,4	1207	3-methyl-1-butanol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,52
12,2	1289	acetoin	58,26	65,37	64,97	55,33	62,17	68,94	54,83	58,68	68,21	54,51	6,57	71,72
13,3	1347	2-methyl-2,3-pentandiol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,08
15,1	1460	kys. octová	26,10	14,25	11,79	29,02	16,84	12,08	28,44	17,00	10,19	32,62	38,99	11,14
17,0	1599	2,3-butandiol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,88	ND
17,4	1635	kys. butanová	0,32	0,16	0,14	0,41	0,23	0,18	0,43	0,22	0,15	0,76	0,85	0,30
19,9	1855	kys. hexanová	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,22	ND	ND
Obsah soli (g/100g)			0,26	2,21	3,10	0,21	2,14	3,13	0,23	2,18	3,09	0,22	2,21	3,06

ND...nedetekováno

Olfaktometrická analýza vzorku 1 d) a 5 d)

Nesolený vzorek 1 d) a vzorek solený 7h 5 d), oba zrající 39 dní, byly podrobeny sedmi olfaktometrickým analýzám. Výsledky jsou znázorněny na Obrázku 1. V obou případech bylo zaznamenáno 12 látek, ale nesolený vzorek byl v součtu více aromatický (součet NIF 6,7) než solený (součet NIF 5,6), což by mohlo být způsobené konzervačním účinkem soli. Pouze v nesoleném vzorku byl také zaznamenán aceton (popisován jako umělý, máslový) a v soleném neznámá látka (máslová, mléčná) s retenčním indexem 988, která nemohla být spolehlivě rozpoznána knihovnou (jedná se pravděpodobně o 3-methyl-2-butanon nebo o methylester kyseliny butanové). V obou vzorcích byla poté zaznamenána neznámá látka s RI 892 a vůní žluklou, sýrovou a tučnou. Všechny identifikované látky jsou dle literatury součástí přirozeného aroma sýrů nebo vznikají během skladování (Curioni & Bosset, 2002; Vítová et al., 2006).



Obrázek 3: Výsledky olfaktometrické analýzy vzorku 1d) a 5d)

Závěr

U všech vzorků byl stanoven obsah soli a byl potvrzen vliv doby solení na obsah soli. Nesolené vzorky obsahovaly $0,23 \pm 0,02$ g soli/100g, vzorky solené 2h $2,18 \pm 0,04$ g soli/100g a solené 7h $3,09 \pm 0,03$ g soli /100g. Ve vzorcích bylo identifikováno celkem 22 těkavých látek (s plochou vyšší než 15×10^4 a navíc dimethyl sulfid s 3-methylbutanalem). Ve většině případů patří tyto látky v analyzovaných vzorcích mezi standardní/běžné složky aroma mléčných výrobků pocházejících z mléka či vznikajících během zpracování a skladování produktů. Acetoin a kyselina octová byly majoritní ve všech sledovaných vzorcích až na vzorek 3d) ve kterém převažoval ethanol nad acetoinem. Dané rozdíly je možné přisuzovat činnosti mikroorganismů aktuálně přítomných v surovině a vlivu výrobního prostředí. Kratší doba setrvání sýrů v lázni se projevila většími plochami píků kyseliny octové (2,6 krát větší než v solených vzorcích), naopak plochy acetoinu byly v neslaných vzorcích 1,7 krát nižší oproti slaným. Výsledné aroma bílých sýrů (vzorku 1d) a 5d)) se skládalo z 13 těkavých látek. Slanější sýr (5d)) obsahoval méně intenzivní sensoricky aktivní látky (součet NIF 5,6 oproti 6,7), což by mohlo být způsobeno konzervačním účinkem soli a tedy zpomalením vzniku bakteriálních metabolitů.

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

- Arora, G., Cormier, F., & Lee, B. (1995). Analysis of Odor-Active Volatiles in Cheddar Cheese Headspace by Multidimensional GC/MS/Sniffing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(3), 748–752. <https://doi.org/10.1021/JF00051A035>
- Curioni, P. M. G., & Bosset, J. O. (2002). Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *International Dairy Journal*, 12(12), 959–984. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00124-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00124-3)
- Hygienická stanice ČR. (2022). *Nadměrný přísun soli – Méně solit*. <https://mene-solit.cz/sul-a-zdravi/nadmerny-prisun-soli/>
- Vítová, E., Loupancová, B., Zemanová, J., Štoudková, H., Březina, P., & Babák, L. (2006). Solid-Phase Microextraction for Analysis of Mould Cheese Aroma. *Czech J. Food Sci.*, 24(6), 268–274. <https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/50305.pdf>
- Hayaloglu, A. A., & Karabulut, I. (2013). SPME/GC-MS characterization and comparison of volatiles of eleven varieties of turkish cheeses. *International Journal of Food Properties*, 16(7), 1630–1653. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.587625>
- Němečková I., Havlíková Š., Forejt J., & Švandrlík Z. (2020). Reformulace čerstvých netermizovaných sýrů snižováním obsahu soli. *Mlékařské Listy*, 31(2), 18–22. http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2020/veda_179_4.pdf
- Salum, P., Erbay, Z., Kelebek, H., & Selli, S. (2017). Optimization of Headspace Solid-Phase Microextraction with Different Fibers for the Analysis of Volatile Compounds of White-Brined Cheese by Using Response Surface Methodology. *Food. Anal. Methods*, 10, 1956–1964. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0774-1>
- Vítová, E., Loupancová, B., Zemanová, J., Štoudková, H., Březina, P., & Babák, L. (2006). Solid-Phase Microextraction for Analysis of Mould Cheese Aroma. *Czech J. Food Sci.*, 24(6), 268–274. Retrieved from <https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/50305.pdf>
- WHO. (2020). *Salt reduction*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salt-reduction>
- WHO. (2021). *WHO global sodium benchmarks for different food categories*. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240025097>

Kontaktní adresa

hankovaa@vscht.cz

Využití bakteriofágu při inhibici kazící mikroflóry brambor

Use of bacteriophages on inhibition of spoiling potato bacteria

Horsáková Iveta, Beňo Filip, Kuncová Gabriela, Ševčík Rudolf

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

SOUHRN

Cílem práce bylo ověřit účinnost bakteriofágů proti růstu bakterií, které způsobují nejčastěji hnilobu u brambor. Jako kontrolní bakterie způsobující hnilobu brambor byla vybrána bakterie *Dickeya dianthicola* a to dva kmeny D50 a D65. Testování účinnosti bakteriofágů bylo provedeno v tekutém médiu PDB pomocí kontinuálního laboratorního bioreaktoru Biosan RTS–8, který zaznamenává růstové křivky bakterií. Další řada pokusů byla provedena na agarovém médiu PDA. Během prováděných pokusů bylo zjištěno, že bakteriofágy nedokážou zabránit nárůstu bakterií v tekutém médiu, kde se naopak projevil ještě intenzivnější nárůst bakterií oproti kontrolním pokusům. Pozitivních výsledků bylo dosaženo na pevném substrátu PDA. Výsledkem této práce je zjištění, že použití bakteriofágů k potlačení hniloby brambor je vhodné zejména pro aplikaci přímo na brambory a není příliš vhodné do dynamických systémů, jako je například plavení nebo mytí suroviny.

Klíčová slova: fágy, bakteriofágy, hniloba brambor, *Dickeya dianthicola*

SUMMARY

The aim of the work was to verify the effectiveness of bacteriophages against bacteria that most often cause potatoes rot. *Dickeya dianthicola* was selected, namely two strains D50 and D65. Testing of bacteriophage efficacy was performed in the liquid medium PDB using continuous laboratory bioreactors Biosan RTS–8, which records the growth curves of bacteria. Another series of experiments was carried out on the solid medium PDA. During the conducted experiments, it was found that bacteriophages could not prevent the growth of bacteria in the liquid medium, when, on the contrary, an even greater increase in bacteria was observed. Good results were achieved on a PDA. As a result of this work, it is found that the use of bacteriophages to suppress potato rot is particularly suitable for application directly to potatoes and is not very suitable for dynamic systems such as floating or washing raw materials.

Keywords: phages, bacteriophages, potato rot, *Dickeya dianthicola*

ÚVOD

Bakteriofágy (fágy) jsou využívány v konzervační technologii jako přírodní antibakteriální agens, které v průběhu několika let díky svým inhibičním vlastnostem prokázaly, že jsou specificky účinné proti patogenům vyskytujícím se v potravinách. Soubor dosavadních znalostí týkajících se fágů vede v současné době k lepšímu pochopení jejich biologie, interakcí fágů s jejich hostiteli a jejich technologických omezení, což přispívá k lepšímu poznání konkrétních podmínek, které je třeba zohlednit při používání fágů pro biologickou inhibici patogenních bakterií v potravinách a zajištění podmínek pro jejich maximální účinnost.

Zvýšené povědomí spotřebitelů o možných nepříznivých účincích použití potravinářských aditiv pro zajištění bezpečnosti a prodloužení trvanlivosti potravin vedly, a i v dnešní době vedou k tomu, že lidé preferují minimálně opracované potraviny vyráběné bez použití chemických konzervantů. V této souvislosti fágy nabízejí atraktivní a přirozený způsob selektivního vyloučení bakteriálních patogenů a nepředstavují žádné riziko pro lidi nebo zvířata.

Možnosti využití bakteriofágů v potravinářství

Nejrozšířenější použití bakteriofágů je popsáno v produkci masa a masných výrobků a v mlékárenství. Fágová terapie je nejčastěji používána proti těmto čtyřem patogenním mikroorganismům: *E. coli*, *Campylobacter*, *Salmonella*, a *Listeria*. Tyto bakterie jsou běžnými kontaminanty hospodářských zvířat, ať již hovězího dobytka nebo ovcí a koz, drůbeže a prasat, kde přežívají v gastrointestinálním traktu zvířat. První inhibice bakterií bakteriofágy probíhá v předporážkové fázi, tedy ještě za života zvířete. Odhaduje se například, že snížení o 2 řády bakterií *Campylobacter* žijících ve střevech kuřat může mít za následek třicetinasobné snížení výskytu kampylobakterií původem z kuřecího masa. U přežvýkavců záleží účinek na mnoha faktorech, např. na způsobu a množství podaných fágů. U prasat se projevil pozitivní účinek na snižování bakterií rodu *Salmonella* v tenkém střevě a to až o 95 %.

Fágy mohou být použity i k ošetření již rozbouraného masa. Stejně jako v předchozích případech se pozornost soustřeďuje zejména na maso kuřecí, hovězí a vepřové. Fágy například mohou být použity proti *S. Enteritidis* nejen při velkých koncentracích obvykle používaných ve studiích, ale i při běžných počtech povrchové kontaminace masa (např. 1 log CFU.cm⁻²). Fágy se však mohou použít i při ošetření rybího masa a to jak syrového, tak například uzeného.

Byly také provedeny studie zabývající se použitím bakteriofágů v mlékárenském průmyslu, a to nejen přímo k ošetření syrového nebo pastеровaného mléka, ale i k ošetření sýrů. Například studie ošetření syrového odstředěného mléka proti *Pseudomonas fragi* nebo proti *Staphylococcus aureus* v syrovém kravském mléce. Přidání fágů do mléka také významně snižuje počty *Salmonella* Enteritidis v sýrech vyrobených z nepasterovaného mléka.

Dalším předmětem studia pak bylo použití bakteriofágů při ošetření vajec. Příkladem může být ošetření vajec postřikem aerosolem bakteriofágů při přepravě do líhni.

Použití fágů není omezeno pouze na produkci potravin živočišného původu. Stejně tak dobře nacházejí své uplatnění při ošetření rostlinných materiálů. Například bylo pozorováno snížení počtů *S. Enteritidis* na plátkovaném melounu nezávisle na skladovacích teplotách v rozmezí 5 – 20 °C. Stejně bakteriofágy byly podrobeny srovnání s chemickými sanitačními prostředky na plátcích medového melounu s výsledkem, že použití fágů přináší větší snížení počtu bakterií rodu *Salmonella* než sanitační prostředky. Avšak ten samý experiment provedený na plátcích jablek nevykázal žádný pokles počtu bakterií. Autoři tento jev připisují nižší hodnotě pH na povrchu jablečných plátek ve srovnání s melounem. Studie se provádějí i na rostlinách rostoucích na plantážích a zejména na jejich plodech. Bylo zjištěno, že přípravky na bázi bakteriofágů jsou mnohem účinnější proti nežádoucím bakteriím než běžně používané preparáty např. biocin na bázi mědi nebo kombinace fágů s biocinem. V některých případech mohou bakteriofágy vykazovat synergický efekt s použitými chemickými konzervanty.

Bakteriofágy se mohou používat v průmyslovém, ale i domácím měřítku k ošetření různých povrchů. Tomuto ošetření se říká také fágová biosanitace. Jedná se jak o povrchy zařízení v potravinářském průmyslu, tak v domácích kuchyních.

Bakteriofágy se pomalu prosazují i do průmyslové praxe. Ustupují obavy z přidávání virů při procesech a do produktů určených pro lidskou spotřebu. USDA (United States Department of Agriculture – Ministerstvo zemědělství USA) zahrnuje několik fágových preparátů do svých vydaných směrnic pro bezpečné a vhodné složky používané při výrobě masných, drůbežích a vaječných výrobků. Například podle směrnice o FSIS 7120.1, je povolena aplikace fágů na hospodářská zvířata před porážkou (např. Fágy *E. coli* O157: H7 na kůži skotu) a potraviny (např. Fág cílený na salmonelu na drůbež nebo maso). Tyto pokyny byly vyvinuty s použitím specifických fágových přípravků, ale obecně lze jakýkoli fágový produkt, který splňuje popis ve směrnici, považovat za vyhovující.

Žádná léčba pomocí bakteriofágů nebyla dosud na úrovni EU povolena, v souvislosti se zvyšující se resistencí bakterií vůči antimikrobním látkám, ale EFSA a Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC) zveřejnilo svou výroční zprávu o úrovni antimikrobiální rezistence v potravinách, zvířatech a lidech v celé EU. V rámci ní doporučilo alternativy k antimikrobikům, u kterých bylo prokázáno, že zlepšují zdraví zvířat, a tím i snižují potřebu používání antimikrobiálních látek; jedná se o vakcíny, probiotika, prebiotika, bakteriofágy a organické kyseliny. Zároveň bylo navrženo, aby Evropská komise, navrhla legislativní rámec pro léčbu pomocí bakteriofágů, který by měl zohledňovat nejnovější vědecký výzkum.

METODIKA

Sledování účinnosti bakteriofágů v tekutém médiu

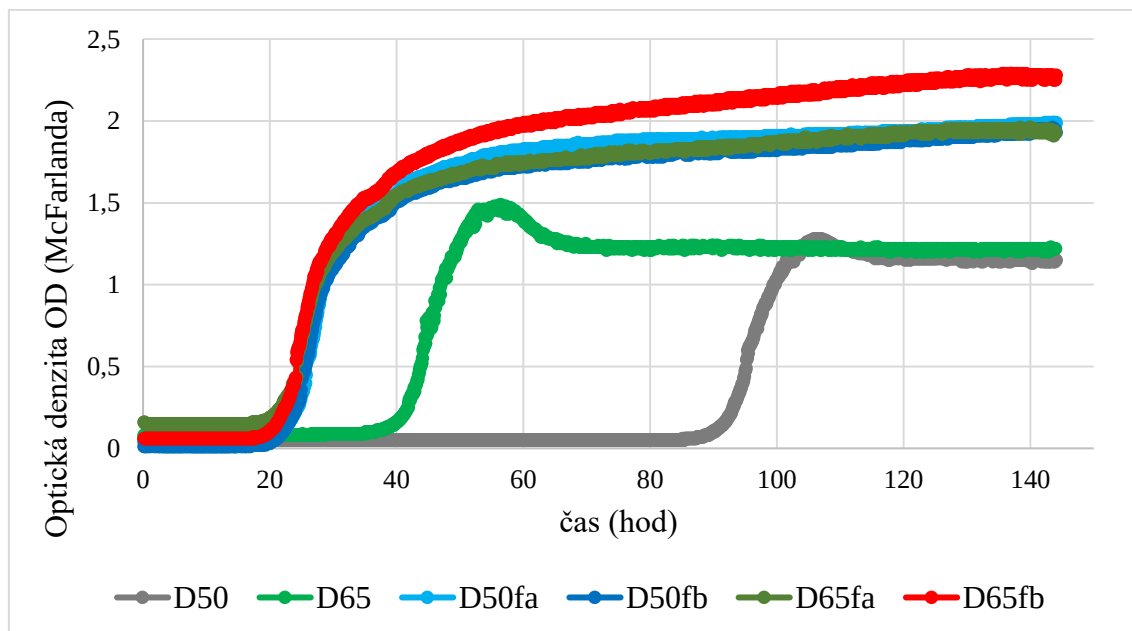
Do tří zkumavek o objemu 50 ml bylo odměřeno 15 ml Potato dextrose broth (PDB). Do těchto zkumavek bylo odpipetováno 100 μ l inokula bakterií *Dickeya dianthicola* kmen 50 (inokulum o koncentraci 4,3 jednotek McFarlanda). Do dvou zkumavek byla přidána suspenze s bakteriofágy o objemu 100 μ l a koncentraci 10^9 PFU $\cdot$ ml $^{-1}$. Tento postup byl zopakován i pro bakterii *Dickeya dianthicola* kmen 65. Zkumavky byly vloženy do bioreaktoru RTS-8, kde byla kontinuálně měřena optická hustota při vlnové délce 850 ± 15 nm v pětiminutových intervalech a zkumavky byly promíchávány rychlostí 1000 ot.min $^{-1}$. Měření probíhalo po dobu 6 dnů.

Sledování účinnosti bakteriofágů na agarové půdě

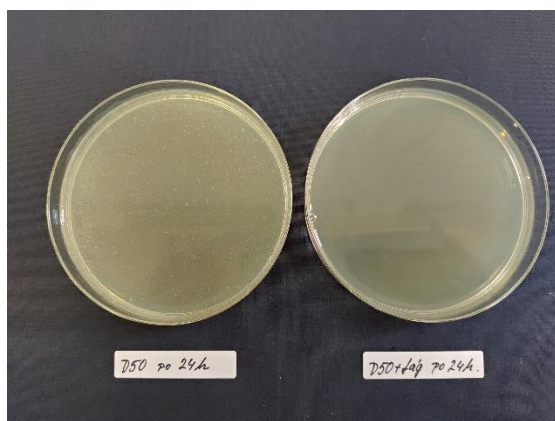
Na dvě Petriho misky bylo zaočkováno 100 μ l inokula bakterií *Dickeya dianthicola* kmen 50 (inokulum o koncentraci 4,3 jednotek McFarlanda). Do jedné z těchto misek byla přidána suspenze s bakteriofágy o objemu 100 μ l a koncentraci 10^9 PFU $\cdot$ ml $^{-1}$. Tento postup byl zopakován i pro bakterii *Dickeya dianthicola* kmen 65. Po inokulaci byly misky zality Potato dextrose agarem PDA a kultivovány při teplotě 25°C, po dobu 3 dny.

Použité kultury bakterií *Dickeya dianthicola* kmeny 50 a 65 a suspenze bakteriofágů byly získány z Výzkumného ústavu bramborářského.

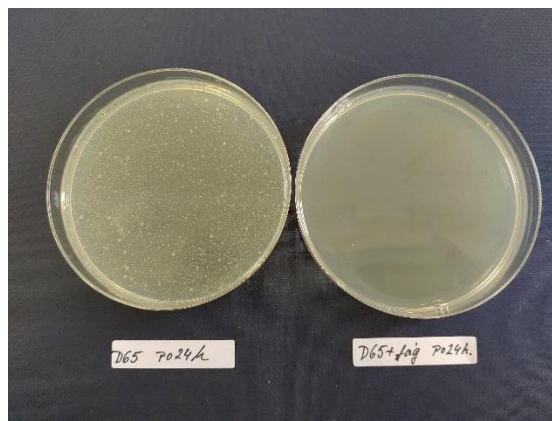
VÝSLEDKY



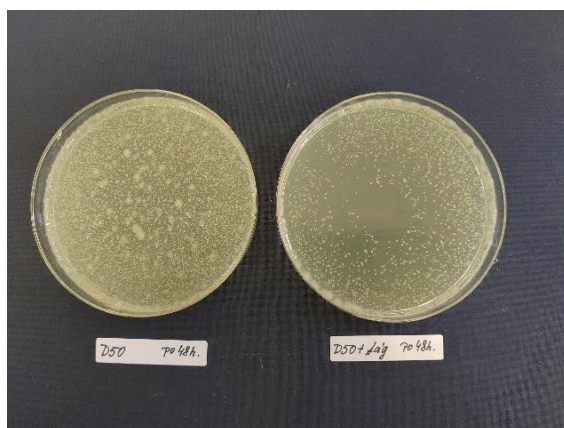
Obr 1: Graf závislosti růstu bakterie *Dickeya dianthicola* (kmen 50 a 65) na čase s přidavkem (D50fa, D50fb, D65fa a D65fb) a bez (D50, D65) přidavku bakteriofága.



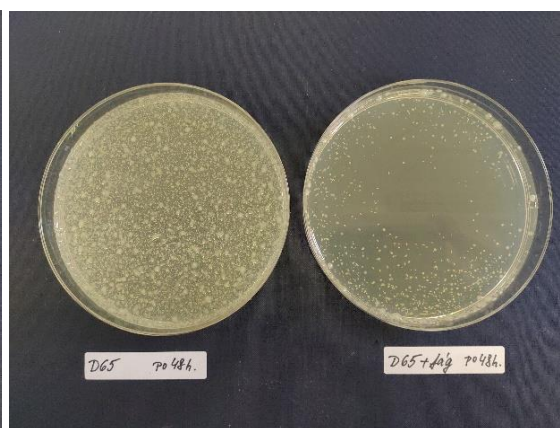
Obr 2: Nárůst kultury D50 na PDA po 24 h. s přidavkem bakteriofága a bez přidavku.



Obr 3: Nárůst kultury D65 na PDA po 24 h. s přidavkem bakteriofága a bez přidavku.



Obr 4: Nárůst kultury D50 na PDA po 48 h. s přidavkem bakteriofága a bez přidavku.



Obr 5: Nárůst kultury D65 na PDA po 48 h. s přidavkem bakteriofága a bez přidavku.

DISKUZE

Z grafu na obrázku 1 je patrné, že obě kultury D50 a D65 s přidavkem bakteriofága rostou rychleji a do vyšších koncentrací a také se zde projevuje i zkrácení lag fáze. Tento jev je možné zdůvodnit tím, že celý systém je dynamický a dochází k rotaci zkumavky s médiem rychlostí 1000 ot.min^{-1} . Z toho důvodu bakteriofágy nejsou schopny se na buňky přichytit a způsobit tak jejich inhibici. Naopak zde dochází k vyvolání stresu u bakterií a tím k jejich rychlejšímu a intenzivnějšímu nárůstu.

Z fotografií (obrázků 3 až 5) je patrné, že bakterie D50 ani D65 nenarůstají s přidavkem bakteriofága po 24 hodinách a po 48 hodinách kultivace se již mírný nárůst kolonií objevuje. Z tohoto výsledku by se dalo usoudit, že statická forma kultivace bakteriofágům více vyhovuje a jsou v tomto prostředí schopny vyhledat bakterie a zabránit jim v růstu.

ZÁVĚR

Z uvedených výsledků vyplývá, že bakteriofágy, které jdou specifické pro bakterii *Dickeya dianthicola* (kmen 50 a 65) na tuto bakterii působí inhibičně ve statickém uspořádání pokusu, tedy v našem případě na agarovém médiu, kde mají větší šanci se přichytit na povrch bakterie. V dynamickém systému, kde dochází k intenzivní rotaci média, bakteriofágy buňky neinhibují, ale způsobují opačný efekt a to zvýšený nárůst kultury.

Literatura:

Greer GG (2005) Bacteriophage Control of Foodborne Bacteria, *Journal of Food Protection*, 68, 1102–1111.

Spricigo DA, Bardina C et al. (2013) Use of a bacteriophage cocktail to control *Salmonella* in food and the food industry, *International Journal of Food Microbiology* 165, 169–174.

Galarce NE, Bravo JL et al. (2014) Bacteriophage cocktail reduces *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* counts in raw and smoked salmon tissues, *Rev Argent Microbiol* 46, 333-337.

Španielová H (2006) Bakteriofágová terapie Utopie, nebo realita? *Vesmír* 85, 750 – 753.

Wittebole X, De Roock S, Opal SM (2014) A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens, *Virulence* 5(1), 226–235.

Sillankorva SM, Oliveira H, Azeredo J (2012) Bacteriophages and Their Role in Food Safety, *International Journal of Microbiology* (1):863945, 1-13.

Summers WC (2012) The strange history of phage therapy, *Bacteriophage* 2:2, 130–133.

Endersen L, O'Mahony J, Hill C et al. (2014) Phage Therapy in the Food Industry, *Annual Review of Food Science and Technology* 5(1), 327-349.

Moye ZD, Woolston J, Sulakvelidze A (2018) Bacteriophage Applications for Food Production and Processing, *Viruses* 10 (4), 205, 1-22.

Bhardwaj N, Bhardwaj SK et al. (2015) Lytic Bacteriophages as Biocontrol Agents of Foodborne Pathogens. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 10, 708-723.

Tolen TN, Xie Y, Hairgrove TB et al. (2018) Evaluation of Commercial Prototype Bacteriophage Intervention Designed for Reducing O157 and Non-O157 Shiga-Toxigenic *Escherichia coli* (STEC) on Beef Cattle Hide, *Foods* 7.

Evropský parlament, o Evropském akčním plánu „Jedno zdraví“ proti antimikrobiální rezistenci (AMR). http://www.europarl.europa.eu/doceo/document/A-8-2018-0257_CS.html (přístup září 2019).

eAgri – Potraviny, Nastal čas snížit, nahradit a přehodnotit používání antimikrobiálních látek u zvířat.

<http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/bezpecnost-potravin/efsa/nastal-cas-snizit-nahradi-a-prehodnotit.html> (přístup září 2019).

Poděkování:

Financováno projektem Ministerstva zemědělství České republiky číslo QK1910028 „Biologická ochrana brambor proti vybraným patogenním bakteriím“.

Kontaktní adresa: Ing. Iveta Horsáková, Ph.D., VŠCHT Praha, Ústav konzervace potravin, FPBT, Technická 166 28, Praha 6 Dejvice, iveta.horsakova@vscht.cz

Příklady použití trysek Ikeuchi v potravinářské výrobě

Examples of the use of Ikeuchi nozzles in food production

Rudolf Jisl

*OTTO KÜHNEN Praha, s.r.o., Boleslavská 31/4, Stará Boleslav,
250 01 Brandýs nad Labem*

Souhrn

Cílem příspěvku je představení použití trysek firmy Ikeuchi v potravinářské výrobě. Použití trysek je možné při čištění fermentačních a kvasnicových nádrží při výrobě piva. Použití trysek zautomatizuje původně manuální práci, kterou též zrychlí. Dále se práce zabývá čištěním vnitřních prostor parních konvekčních trub od oleje. Trysky se používají k desinfekci výrobních prostor při výrobě chleba, nekontaminují produkt. Dezinfikovat lze též i dopravníkový pás. Trysky se též používají pro dávku přesného množství oleje (maštění plechu) na plech při výrobě sušenek. Dalším příkladem je úprava vlhkosti listového těsta při výrobě bábovek a úprava vlhkosti při výrobě knedlíků.

Summary

The aim of the paper is to introduce the use of Ikeuchi nozzles in food production. The use of nozzles is possible in the cleaning of fermentation and yeast tanks in the production of beer. The use of nozzles automatically automates the manual work, which also speeds it up. Furthermore, the work deals with cleaning the interior of steam convection pipes from oil. The nozzles are used to disinfect the production premises during the production of bread, they do not contaminate the product. The conveyor belt can also be disinfected. Nozzles are also used to dose the exact amount of oil (sheet metal grease) onto the sheet in the production of biscuits. Another example is the moisture treatment of puff pastry in the production of muffins and the moisture treatment in the production of dumplings.

Klíčová slova: *Ikeuchi, fermentační nádrž, čištění vnitřních ploch, kvasnicová nádrž, parní trouba, čištění potrubí, výroba chleba, desinfekce, vlhčení, vlhkost, velikost částic, tryška, rotační tryška, jemná mlha, velikost částic, dopravníkový pás, dávkování oleje, úprava vlhkosti, listové těsto, knedlík, bábovka, průběžná pec, koláček, sušenka*

Keywords: *Ikeuchi, fermentation tank, interior cleaning, yeast tank, steam oven, pipe cleaning, bread production, disinfection, humidification, humidity, particle size, nozzle, rotary nozzle, fine mist, particle size, conveyor belt, oil dosing, humidity treatment, puff pastry, dumpling, cream puff, continuous oven, cookie, biscuit*



Na obrázku je znázorněna tryska, kterou nabízí firma Ikeuchi k čištění fermentační nádrže při výrobě piva. Dříve používaná tryska byla statická použitím trysky Ikeuchi se sníží čas čištění o 10 minut. Rozprašovací tryska upevněná na místě nemůže pomoci vyčistit vnitřek fermentační nádrže úplně a zanechává zbytky na povrchu trubek v nádrži. U příležitosti renovace zařízení přišlo rozhodnutí otestovat rozprašovací trysky, které dokážou provádět rovnoměrné a automatizované čištění. Je navržen přístup k čištění s rotační tryskou namísto pevné.

Zapůjčením předváděcí jednotky zákazník skutečně pozná účinek rotačních trysek. Dále je testován produkt navržený na míru tak, aby vyhovoval specifikacím nádrže, což uspokojí zákazníka svým čisticím účinkem. Čištění nádrže je automatizované a doba procesu je zkrácena o 10 minut. Automatické čištění všech několika desítek nádrží snižuje podstatné náklady.

Technické parametry trysky: tlak 1,0-3,0MPa; kapacita 12-70 l/min; teplota při aplikaci 4- 60°C.

Vzdálenost od trysky ke stěně nádrže 9m, rotační tryska.

Na obrázku je znázorněna tryska firmy Ikeuchi určená k čištění od zbytků v kvasnicové nádrži.

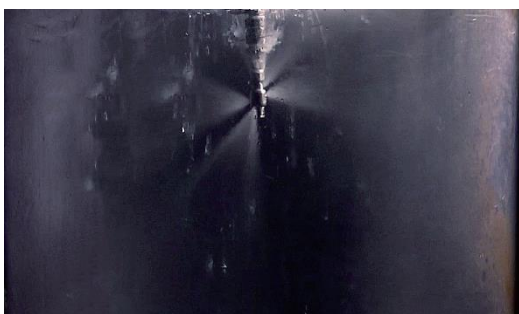


V pivovare byl řešen problém při vypouštění vysoce viskózních zbytků z kvasnicové nádrže a jejím následným čištěním.

Použití čištění pomocí trysky s více otvory se proudy vody dostávají ke dnu nádrže a naředí zbytky v kvasné nádrže, boční otvory tryska zároveň čistí boky nádrže. Proces čištění se výrazně urychlil. Došlo k odstranění ruční práce.

Technické parametry trysky: tlak 0,1-0,5MPa; kapacita 35,4-395 l/min; teplota při aplikaci 60°C.

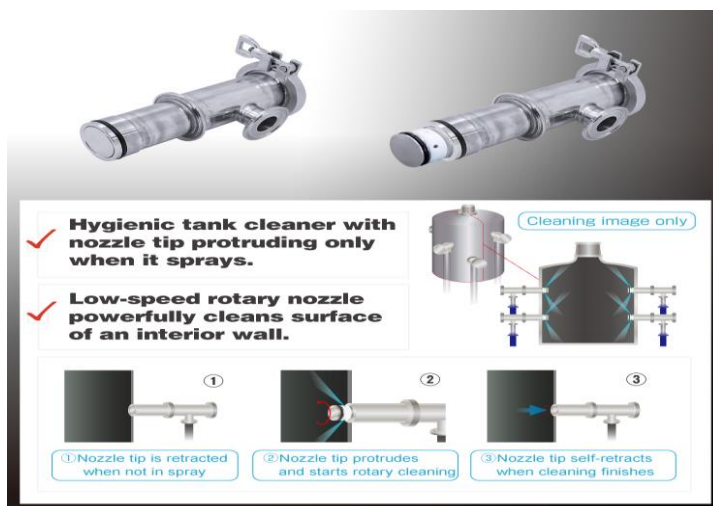
Čištění vnitřních prostor trouby.



Dříve pracovník čistil manuálně vnitřní plochy trouby od olejových skvrn. Nyní při použití trysky Ikeuchi se nanese čisticí prostředek do vnitřku trouby a trouba je následně čistěna automaticky pomocí rotační trysky. Dojde rychleji k odstranění zbytků oleje.

Technické parametry: rotační tryska o otáčkách 5-10/min; průtok 9,19-274 l/min; pracovní teplota trysky až 150°C, tlak 0,15-1,0MPa.

Rotační čistící nízkotlaká tryska určená k čištění sušících nádrží a přilehlého potrubí.



Zde firma Ikeuchi navrhla novou středo tlakovou rotační trysku, náhradu za vysokotlakové čištění. Použití vysokotlaké rotační trysky docházelo k nerovnoměrnému čištění. Bylo dosaženo snížení nákladů.

Technické parametry: průtok čistícího roztoku 40-80 l/min při tlaku 0,3MPa, teploty 80°C. Zařízení je odpojitelné pomocí objímky.

Dalším případem použití trysek Ikeuchi je dezinfekce prostor při chladnutí při výrobě chleba.



Zahájení chladicího procesu horkých bochníků chleba vytvořilo dokonalé prostředí pro růst plísní. Řešením bylo použití pneumatických trysek neboli vzduchových atomizačních trysek, které rozprašují jemnou mlhu o střední velikosti kapiček 20 až 100 μm .

To umožnilo dezinfikovat roztokem alkoholu celou místnost, aniž by se na chlebu přímo usazoval alkohol. Účinná prevence růstu plísní zamezila výskyt znečištěného produktu ke spokojenosti zákazníka.

Obdobně byly trysky Ikeuchi použity při sterilizaci dopravníkového pásu roztokem alkoholu. Pekárna dříve ručně dezinfikovala svou dopravní linku pro výrobu těsta s alkoholem, ale hledala možnosti, jak zlepšit čištění pásu.

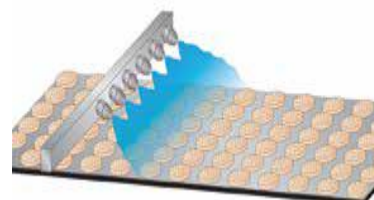


Požadavek zákazníka: dezinfikovat dopravní pás alkoholem a osušit jej před opětovným naložením produktu. K tomu je povrch pásu nastříkán rovnoměrně a přesně s alkoholem, zatímco směřuje dolů, čímž se minimalizuje jakýkoli odpad.

Nyní se celý proces zautomatizoval. Na dopravníkový pás je nastříkáno přesné množství roztoku alkoholu, které je následně vysušeno. Po té se přepravuje zboží na pásu, vše je zautomatizováno.

Velikost kapiček se pohybuje v rozmezí 20-100 μm .

Kontrola vlhkosti těsta během procesu výroby bábovky a knedlíků.



Kolísání vlhkosti těsta zákaznickovy způsobuje značné ztráty. Textura těsta popraská. Použitím systému vlhčení Ikeuchi vlhkost těsta byla stejnoměrná, průměr kapiček mlhy se pohyboval v rozmezí 20-100µm. Zlepšila se také chuť výrobků.



Maštění plechů na výrobu sušenek a koláčků



V cukrárně se vyskytly problémy při mazání dopravního pásu tunelové pece na pečení cukroví. Trysky, které zákazník používal, nanášely příliš mnoho oleje, což mělo za následek těžký olejový kouř a mnoho olejových skvrn. Pneumatické trysky snížily množství potřebného oleje, což následně zlepšilo pracovní prostředí a ušetřilo náklady na strojní zařízení, čímž pokrylo všechny požadavky našich zákazníků. Množství oleje rozstříkovaného těmito tryskami bylo na dopravním pásu sotva viditelné a snížilo se.

Autor příspěvku umožní zapůjčení vlhčících zařízení a poradí s optimalizací parametrů pro Váš provoz.

Kontaktní adresa: rudolf.jisl@kuehnen.com

Možnosti ověření pravosti včelího vosku

Possibilities of verification of the authenticity of beeswax

Vojtěch Kružík^a, Martina Weberová^a, Karolína Mazáčová^b, Tereza Škorpilová^a,
Helena Čížková^a

^a Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,
Technická 3, 166 28 Praha 6 – Dejvice

^b Celně technická laboratoř Praha, Budějovická 7, 140 00 Praha 4 - Michle

ABSTRAKT

Falšování včelího vosku (*Apis mellifera*) představuje ve včelařském oboru celosvětový problém. Včelí vosk je nejčastěji poškozen přidavkem levného a dobře dostupného parafinu nebo stearinu. Situace je také způsobena nedostatečnou oficiální kontrolou a nejednotným přístupem ve volbě analytických metod. Cílem studie je rozlišení falšovaného a autentického včelího vosku pomocí vybraných metod. Ze základních metod bylo provedeno stanovení bodu tání, čísla kyselosti a zmýdelnění. Jako referenční byla použita metoda stanovení alkanů pomocí plynové chromatografie s hmotnostním detektorem a v neposlední řadě byla pro rychlý screening využita nukleární magnetická rezonance. Vzorky byly zakoupeny ve včelařských prodejnách (mezistěny) nebo získány přímo od včelařů. Proměřeny byly také nejběžnější typy adulterantů (parafin a stearin).

Klíčová slova: včelí vosk, parafin, stearin, alkany

ABSTRACT

Adulteration of beeswax (*Apis mellifera*) is a worldwide problem in beekeeping. Beeswax is most often damaged by the addition of cheap and readily available paraffin or stearin. The situation is also caused by insufficient official control and a non-uniform approach in the choice of analytical methods. The aim of the study is to distinguish adulterated and authentic beeswax using selected methods. Among the basic methods, the melting point, acidity number, and saponification number were determined. The method of determination of alkanes using gas chromatography with a mass detector was used as a reference, and nuclear magnetic resonance was used for rapid screening. Samples were purchased in beekeeping stores (foundation) or obtained directly from beekeepers. The most common types of adulterants (paraffin and stearin) were also measured.

Keywords: beeswax, paraffin, stearin, alkanes

ÚVOD

Hodnocení autenticity včelího vosku pomocí základních fyzikálně-chemických parametrů je v současné době nedostatečné. Mezi nejčastěji detekované příměsi patří parafin, stearin, kyselina stearová či palmitová. Přídavek těchto sloučenin negativně ovlivňuje stabilitu včelího díla a zdravotní stav včelstev. Prokázána byla zvýšená úmrtnost včelího plodu v díle vystaveném z falšovaného vosku. Zároveň existuje potenciální riziko výskytu falšovaného vosku v potravinovém řetězci (Reybroeck, 2018; Svenčnjak a kol., 2019).

Pro charakterizaci včelího vosku se běžně používají fyzikálně-chemické parametry: číslo kyselosti, číslo esterové, číslo zmýdelnění, číslo jodové, číslo acetylové, číslo Büchnerovo, číslo Hüblovo, nezmýdelnitelný podíl a bod tání. Metody pro výše uvedené analýzy jsou mezinárodně harmonizovány. Pro stanovení kompletního složení vosku se nejčastěji uplatňuje plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem (GC-MS). Pro odhalení přídavku parafinu se standardně používá infračervená spektroskopie (FTIR-ATR). V zahraničních laboratořích (Laborař Intertek, Brémy, Německo) se vedle těchto metod nově uplatňuje NMR spektroskopie (¹H-NMR), v České republice není tato metoda zatím zavedena. Cílem této práce je rozšířit možnosti identifikace falšovaného včelího vosku.

MATERIÁL A METODY

Celkem bylo analyzováno 25 vzorků vosků pocházejících z České republiky. Zakoupeny byly mezistěny (3 vzorky: M1-M3), 17 vzorků (ve formě plástů, V1-V17) bylo získáno od včelařů a 5 autentických vosků (A1-A5) bylo zpracováno z odvíčkování plástů (víčka). Dále byly analyzovány běžně používané adulteranty: parafin (3 vzorky: P1-P3), stearin (3 vzorky: S1-S3) a připravené modelové směsi (Tab. 1).

Tab. 1 Adulteranty a připravené modelové směsi

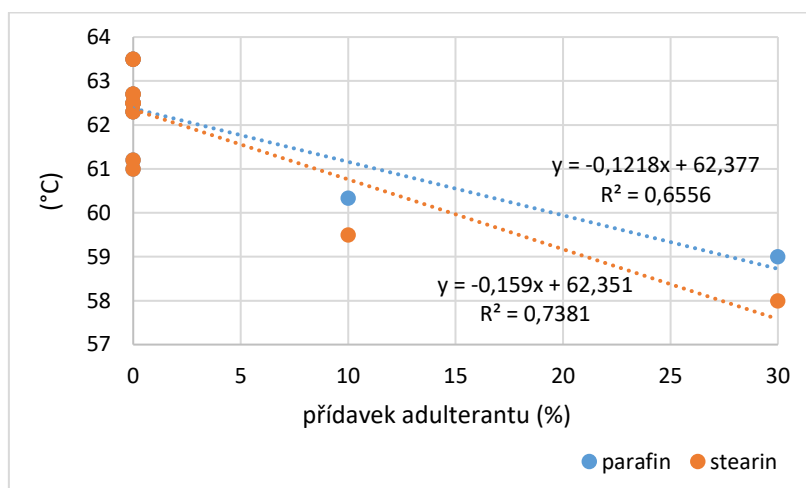
Typ vzorku	Označení
Parafin	P1, P2, P3
Stearin	S1, S2, S3
Směs (přídavek parafinu/stearinu v %)	V1P1 (10 %), V1P1 (30 %), V1S1 (10 %), V1S1 (30 %) V4P1 (5 %), V4P1 (10 %), V4P1 (20 %), V4S1 (5 %), V4S1 (10 %), V4S1 (20 %)

Bod tání a číslo zmýdelnění bylo stanoveno modifikovaným postupem podle Bonvehi a kol., 2012. Číslo kyselosti bylo provedeno titračně na základě postupu podle Svečnjak a kol., 2019. Obsah alkanů byl zjištěn pomocí plynové chromatografie s hmotnostním detektorem (Waš a kol., 2014). NMR analýza byla provedena v CTL Praha (NMR Advance III HD 500, Bruker).

VÝSLEDKY

Ověření detekčního limitu metod

V rámci základního hodnocení použitých metod byl ověřen jejich limit pro detekci nejčastěji používaných adulterantů (parafín a stearin). Bod tání je základní parametr, který ovlivňuje specifické vlastnosti včelího vosku. Podle literárních údajů se bod tání včelího vosku pohybuje v intervalu 61 – 65 °C, zatímco parafín je charakteristický teplotami tání 45 – 70 °C a stearin 52 – 55 °C (Bonvehi a kol., 2012). Na Obr. 1 je znázorněna závislost bodu tání modelových vzorků na přídávku parafínu a stearinu. Nulový přírůstek adulterantu je vyjádřen hodnotami bodu tání pro mezistěny, vosky od včelařů a autentické vosky. Z výsledků je zřejmé, že metoda je použitelná až pro přírůstky adulterantu vyšší než 10 %.

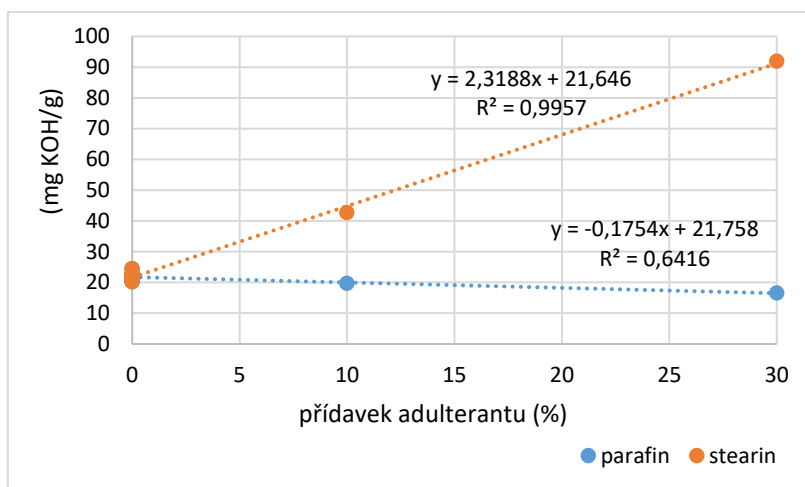


Obr. 1 Závislost bodu tání na přídávku adulterantu (parafín, stearin)

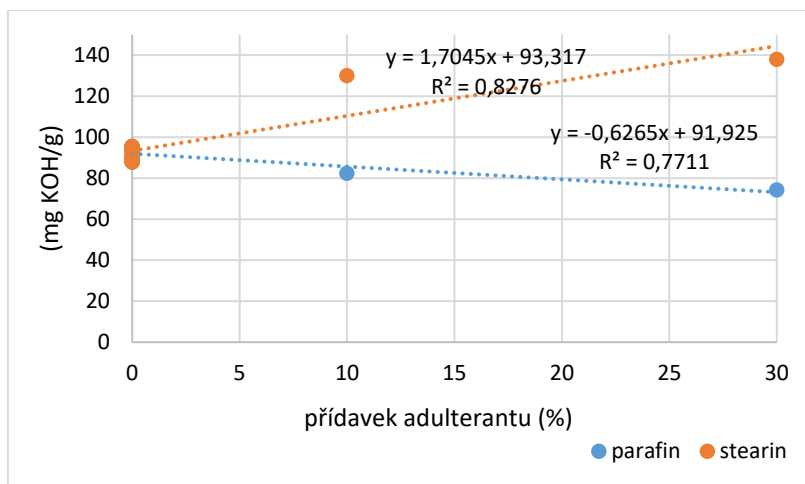
Číslo kyselosti je dalším charakteristickým parametrem včelího vosku. Včelí vosk je typický hodnotami 14 – 23 mg KOH/g, parafín má nulovou hodnotu a stearin obvykle hodnotu 195 – 252 mg KOH/g (Maia a kol., 2013). Ze zjištěných hodnot (Obr. 2) vyplývá, že přírůstek parafínu způsobuje pokles čísla kyselosti, zatímco přírůstek stearinu výslednou hodnotu zvyšuje. Přírůstek 30 % parafínu způsobí malý pokles čísla kyselosti, naopak 30% přírůstek stearinu vyvolá jeho významný nárůst. Pomocí tohoto parametru je prokazatelná přítomnost stearinu od 5 %, ale v případě parafínu je detekovatelný přírůstek až od 30 %.

Mezi základní parametry včelího vosku patří také číslo zmydlnění. Zjištěné hodnoty pro modelové vzorky jsou uvedeny v Obr. 3. Číslo zmydlnění včelího vosku dle literárních zdrojů (Bonvehi a kol., 2012) nabývá hodnot v rozmezí 85 – 100 mg KOH/g, číslo zmydlnění parafínu je nulové a hodnota pro stearin je 196 – 252 mg KOH/g. Přírůstek parafínu způsobuje pokles čísla zmydlnění, naopak s přírůstkem stearinu dochází k jeho nárůstu. Ze zjištěných výsledků je zřejmé, že pomocí tohoto parametru je možné zjistit

přídavek větší než 10 % adulterantu. Dle literárních studií (Svečnjak a kol., 2019) je možné rozpoznat přídavek adulterantu už od 5 %.



Obr. 2 Závislost čísla kyselosti na přídavku adulterantu (parafin, stearin)



Obr. 3 Závislost čísla zmydlenění na přídavku adulterantu (parafin, stearin)

Profil alkanů byl charakterizován pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GC/MS). Koncentrace jednotlivých alkanů pro modelové vzorky jsou uvedeny v Tab. 2. Z výsledků je zřejmé, že přídavek parafinu koncentraci alkanů zvyšuje, naopak přídavek stearinu ji snižuje. Pro analyzované směsi byla vyhodnocena závislost koncentrace alkanů na definovaném přídavku adulterantu. Jako srovnávací (autentický vosk) byl využit vzorek A4. V případě přídavku parafinu byla pozorována silná korelace (R^2 0,826 – 0,997) pro alkaný C24, C26, C28, C30 a C32. Hodnota koncentrace uvedených alkanů je potenciálně vhodná pro odhad přídavku parafinu. Posouzení adulterace pomocí stearinu je, vzhledem k malému poklesu koncentrace alkanů a variabilitě autentických vosků,

značně problematické. Použitá metoda je především vhodná pro odhalení vosků falšovaných přidavkem parafínu.

Tab. 2 Koncentrace alkanů modelových směsí (GC/MS)

Alkan	Koncentrace (g alkanu/100 g)									
	V1P1_ 10	V1P1_ 30	V1S1_ 10	V1S1_ 30	V4P1_ 5	V4P1_ 10	V4P1_ 20	V4S1_ 5	V4S1_ 10	V4S1_ 20
C20	0,01	0,02	0,03	0,03	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
C21	0,03	0,04	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02
C22	0,04	0,07	0,00	0,01	0,03	0,04	0,08	0,01	0,01	0,01
C23	0,29	0,37	0,16	0,14	0,48	0,51	0,64	0,36	0,33	0,29
C24	0,22	0,53	0,02	0,02	0,21	0,37	0,79	0,03	0,03	0,02
C25	0,77	1,12	0,36	0,30	1,19	1,30	1,82	0,81	0,75	0,69
C26	0,49	1,13	0,04	0,03	0,48	0,81	1,63	0,08	0,09	0,07
C27	2,35	2,37	1,55	1,30	3,7	3,33	3,71	3,02	2,78	2,83
C28	0,56	1,33	0,05	0,04	0,53	0,88	1,80	0,09	0,09	0,07
C29	1,88	2,23	1,14	0,95	2,73	2,58	3,15	2,15	1,97	1,93
C30	0,55	1,40	0,05	0,04	0,45	0,81	1,73	0,04	0,04	0,03
C31	1,48	1,82	0,82	0,68	1,92	1,91	2,44	1,47	1,4	1,28
C32	0,32	0,85	0,02	0,04	0,23	0,48	1,00	0,04	0,04	0,02
C33	0,45	0,67	0,13	0,10	0,48	0,58	0,79	0,31	0,28	0,00
C34	0,15	0,47	0,30	0,35	0,06	0,17	0,42	0,00	0,00	0,00
C35	0,08	0,30	0,03	0,03	0,03	0,00	0,27	0,00	0,00	0,00
C36	0,03	0,16	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C37	0,03	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00
C38	0,10	0,09	0,03	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C39	0,11	0,06	0,04	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C40	0,13	0,05	0,01	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Suma	10,10	15,20	4,81	4,20	12,57	13,8	20,41	8,43	7,85	7,26

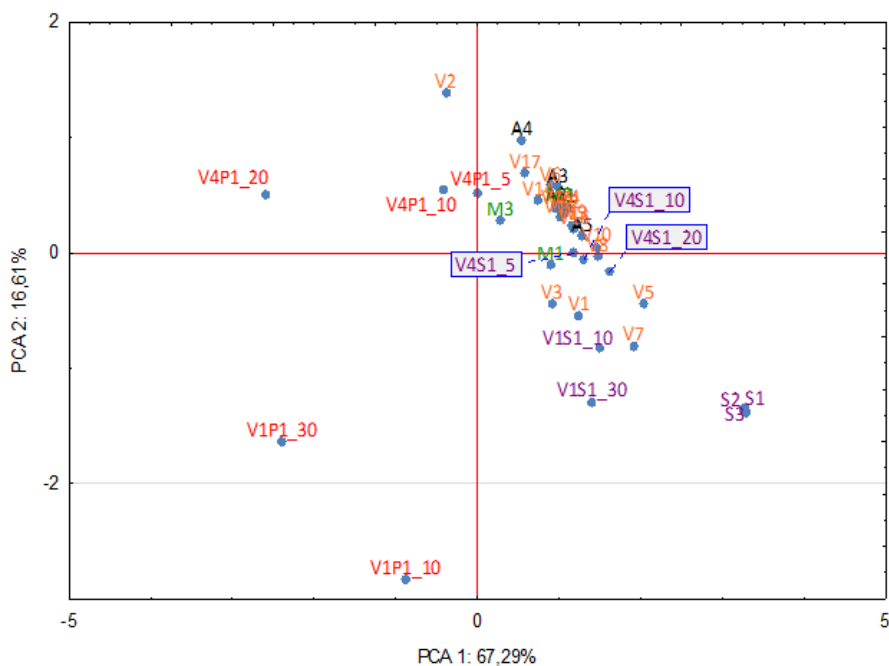
Pro hodnocení autenticity vosku byla odzkoušena metoda nukleární magnetické rezonance. Vzhledem k tomu, že se jednalo o předběžnou studii, byly z modelových směsí otestovány pouze vzorky V4P1 (5, 10 a 20 %) a V4S1 (5, 10 a 20 %). Zjištěné plochy NMR signálů pro modelové vzorky jsou uvedeny v Tab. 3. Hodnoty signálů jsou vztaženy k signálu v oblasti 5,5495 – 5,2602, u kterého byla plocha zvolena jako jednotková. Tento signál byl vybrán na základě skutečnosti, že se vyskytuje pouze u autentického včelího vosku a není ovlivněn přidavkem testovaných adulterantů. V oblasti chemického posunu 2,1956 – 0,6398 ppm se silně projevuje přidavek parafínu. Pro přidavek stearinu je naopak pozorovatelný nárůst signálu v oblasti chemického posunu 2,6221 – 2,1999 ppm. V obou případech změna signálu lineárně koreluje s přidáním množství adulterantu (R^2 0,97 – 0,99). Zjištěné výsledky naznačují, že je metoda NMR vhodná pro testování autenticity včelího vosku.

Tab. 3 Plochy NMR signálů pro modelové směsi

Vzorek	Chemický posun (ppm)					
	2,1956 – 0,6398	2,6221 – 2,1999	3,8910 – 3,4240	4,3131 – 3,8992	5,1692 – 4,6012	5,5495 – 5,2602
V4P1_5	180,4167	4,3236	0,4216	2,5577	0,4279	1
V4P1_10	198,3419	4,4835	0,2785	2,4989	0,3807	1
V4P1_20	246,7122	4,7303	0,4055	2,5238	0,3529	1
V4S1_5	209,1080	5,0760	0,4962	2,5725	0,3790	1
V4S1_10	190,4210	5,5941	0,3101	2,5063	0,4034	1
V4S1_20	213,4030	6,9401	0,3889	2,5502	0,3961	1

Testování vzorků z České republiky

U vzorků vosků od českých včelařů (V1 – V17) byly stanoveny následující parametry: bod tání, číslo kyselosti, číslo zmýdelnění a profil alkanů pomocí GC/MS. Základní fyzikálně-chemické parametry splnily všechny vzorky, naměřené hodnoty odpovídaly autentickému včelímu vosku (Bonvehi a kol., 2012; Maia a kol., 2013). Významnější rozdíly byly pozorovány v případě koncentrace alkanů. Vzorek V7 byl typický nižší koncentrací většiny alkanů a naopak významně vyšším zastoupením alkanu C35. Dalším podezřelým vzorkem byl V17. Podle zvýšené koncentrace některých alkanů lze u tohoto vzorku usuzovat na možný přídavek parafinu. Pomocí analýzy hlavních komponent (PCA) byly zpracovány profily alkanů pro vosky od českých včelařů, mezistěny, adulteranty a modelové vzorky (Obr. 4). Na obrázku je zřejmé oddělení vzorků parafinu (P1 – P3; zcela mimo zobrazenou oblast), stearinu (S1 – S3) a modelových směsí (V1P1 a V4P1_20). Kvůli vysoké variabilitě, netvoří ostatní vzorky vosků těsný shluk.

**Obr. 4** Analýza hlavních komponent (PCA); koncentrace alkanů C20 – C40 (GC/MS)

ZÁVĚR

Pro základní zhodnocení autenticity vosku mohou být využity jednoduché fyzikálně-chemické parametry, jako je bod tání, číslo kyselosti a číslo zmýdelnění. Pro kvantifikaci přídavku adulterantů (nejčastěji parafinu či stearinu) je nutné zvolit pokročilejší instrumentální metody. V této práci byla ověřena metoda stanovení alkanů pomocí GC/MS a nový přístup pomocí NMR. V případě využití stanovení alkanů bylo zjištěno, že spolehlivě lze detekovat přídavek parafinu > 10 % a stearinu > 30 %. U metody NMR bylo provedeno pouze základní ověření, ale z výsledků vyplývá, že metoda bude použitelná pro určení přídavku parafinu a stearinu > 10 %. Spolehlivost této metody bude dále ověřována pomocí větší série autentický vosků a modelových vzorků.

PODĚKOVÁNÍ

Výzkum byl financován z Juniorského grantu rektora VŠCHT Praha 2022 (Průkaz nežádoucích příměsí ve včelím vosku (*Apis mellifera*)).

POUŽITÁ LITERATURA

Bonvehí J. S.; Bermejo F. J. O. (2012): Detection of adulterated commercial Spanish beeswax. *Food Chemistry*, 132, 642-648.

Maia M.; Nunes F. M. (2013): Authentication of beeswax (*Apis mellifera*) by high-temperature gas chromatography and chemometric analysis. *Food Chemistry*, 136, 961-968.

Reybroeck W. (2018): Field trial: Effect of the addition of stearic acid and palmitic acid to beeswax on the development of the worker bee, *ILVO*, final report, July 17, https://www.health.belgium.be/sites/default/files/uploads/fields/fpshealth_theme_file/ve_rslag_veldproef_ilvo_2018_eng.pdf.

Svečnjak L.; Chesson L. A.; Gallina A.; Maia M.; Martinello M.; Mutinelli F.; Muz M. N.; Nunes F. M.; Saucy F.; Tipple B. J.; Wallner K.; Waś E.; Waters T. A. (2019): Standard methods for *Apis mellifera* beeswax research. *Journal of Apicultural Science*, 58, 1-108.

Svečnjak L.; Jović O.; Prdun S.; Rogina J.; Marijanović Z.; Car J.; Matošević M.; Jerković I. (2019): Influence of beeswax adulteration with paraffin on the composition and quality of honey determined by psycho-chemical analyses, ¹H NMR, FTIR-ATR and HS-SPME/GC-MS. *Food Chemistry*, 291, 187-198.

Waś E.; Szczesna T.; Rybak-Chmielewska H. (2014): Determination of beeswax hydrocarbons by gas chromatography with a mass detector (GC-MS) technique. *Journal of Apicultural Science*, 58, 145-157.

KONTAKTNÍ ADRESA: kruzikv@vscht.cz

P12

Možnosti aplikace pulsního elektrického pole k inhibici a stimulaci vybraných mikroorganismů

Application of pulsed electric field to inhibition and stimulation of selected microorganisms

Kuncová Gabriela, Horsáková Iveta, Reitmeier Jakub

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

Abstrakt

Metoda pulsního elektrického pole se v posledních letech stala předmětem mnoha experimentálních studií. Principiálně je metoda založena na jevu zvaném elektroporace, při kterém dochází ke vzniku hydrofilních pórů v buněčné membráně. Tím dochází k efektivnějšímu sdílení látek mezi intracelulárním prostředím a okolím buňky. Klíčovými parametry pulsního elektrického pole je jeho intenzita, počet pulsů aplikovaných na buňku a délka pulsů. Nastavením těchto parametrů lze ovlivnit, zda nastane elektroporace reverzibilní, při které si zachová buňka svoji životaschopnost, či ireverzibilní, při které dochází k buněčné lýzi.

V rámci této práce byl testován vliv nastavených parametrů (intenzita elektrického pole, frekvence pulsů) na kvasinku *Saccharomyces cerevisiae* za účelem dosažení ireverzibilní elektroporace vedoucí k mikrobiální inaktivaci. V rámci sledovaných parametrů bylo dosaženo redukce kolonie tvořících jednotek (KTJ) o 5,5 řádu při intenzitě elektrického pole $12 \text{ kV} \cdot \text{cm}^{-1}$ a frekvenci pulsů 800 Hz. Dále byl sledován vliv nastavených parametrů (intenzita elektrického pole, délka pulsů) na fermentující bakterii *Lactobacillus plantarum* za účelem dosažení reverzibilní elektroporace vedoucí ke stimulaci růstu této bakterie. V rámci sledovaných parametrů bylo dosaženo nejintenzivnějšího růstu při vystavení *Lactobacillus plantarum* pulsnímu elektrickému poli o intenzitě $3 \text{ kV} \cdot \text{cm}^{-1}$, frekvenci 100 Hz a délce pulsu $5 \mu\text{s}$.

Klíčová slova: *Pulsní elektrické pole, mikrobiální inaktivace, mikrobiální stimulace, Saccharomyces cerevisiae, Lactobacillus plantarum*

Abstract

The pulse electric field has become the subject of many experimental studies in recent years. In principle, the method is based on a phenomenon called electroporation, in which hydrophilic pores are formed in the cell membrane. This leads to a more efficient sharing of substances between the intracellular space and the cell environment. The key parameters of the pulse electric field are its intensity, the number of pulses applied to the

cell and the length of the pulses. By setting these parameters, it is possible to influence whether there is a reversible electroporation, in which the cell retains its viability, or irreversible, in which cell lysis occurs.

As part of this work, the influence of set parameters (electric field strength, pulse frequency) on the yeast *Saccharomyces cerevisiae* was tested, in order to achieve irreversible electroporation leading to microbial inactivation. Within the monitored parameters, a 5,5 log reduction in *Saccharomyces cerevisiae* was achieved with application of electric field strength of 12 kV.cm^{-1} and a pulse frequency of 800 Hz. Furthermore, the influence of the set parameters (electric field strength, pulse length) on the fermentative bacterium *Lactobacillus plantarum* was monitored in order to achieve reversible electroporation leading to stimulation of the growth of this bacterium. Within the monitored parameters, the most intense growth was achieved when *Lactobacillus plantarum* was exposed to a pulse electric field with an intensity of 3 kV.cm^{-1} , a frequency of 100 Hz and a pulse length of $5 \mu\text{s}$.

Keywords: Pulsed electric field, microbial inactivation, microbial stimulation, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum*

Úvod do problematiky

Současným trendem potravinářského inženýrství je inovace tradičních výrobních postupů pomocí nových alternativních metod. Cílem je především zkrátit dobu procesu, zvýšit výtěžnost a snížit náklady a spotřebu energií. V tomto směru se non-termální metoda pulsního elektrického pole (PEF) jeví jako vysoce perspektivní [1]. V průmyslovém měřítku se s ní již můžeme setkat při výrobě nealkoholických nápojů, kde nahrazuje pasterační záhřev a slouží k prodloužení trvanlivosti nápojů bez dopadu na sensorické vlastnosti, nutričně cenné a bioaktivní látky, či při výrobě hranolek a chipsů, kdy je předúpravou suroviny pomocí PEF snížení obsah redukujících cukrů, a to vede i ke snížení obsahu akrylamidu ve finálním produktu [2].

Mikrobiální inaktivace pulsním elektrickým polem

Mikrobiální inaktivace pomocí pulsního elektrického pole (PEF – Pulse Electric Field) je založena na jevu zvaném elektroporace. Jedná se o vytvoření strukturálních změn a hydrofilních pórů v buněčné stěně kontaminující bakteriální buňky prostřednictvím působení elektrických pulsů. V závislosti na zvolených parametrech elektrického pulsního pole (počet, typ a délka elektrických pulsů a intenzita elektrického pole) lze dosáhnout přechodných nebo stálých změn buněčné stěny. Hovoříme o reverzibilní elektroporaci, při které dochází k vytvoření pórů pouze po určitou dobu a po jejich uzavření si buňka zachovává životaschopnost, nebo o ireverzibilní elektroporaci, která končí buněčnou smrtí [1, 3].

V posledních letech byla metoda pulsního elektrického pole úspěšně aplikována v laboratorních podmínkách při netermální pasteraci zejména tekutých a kašovitých potravin jako jsou například džusy, mléko, jogurty, polévky bez větších kusů a tekutá vejce. Konzistence ošetřovaného materiálu je jedním z mála omezujících faktorů použití této metody [4]. Kromě ní je dalším limitujícím faktorem elektrická vodivost [4]. Vysoká elektrická vodivost ošetřované potraviny (například tekuté vaječné výrobky s elektrickou vodivostí pohybující se v rozmezí od 0,22 do 1,1 S.m⁻¹) představuje jistou komplikaci, neboť při aplikaci vysokofrekvenčního proudu se v ošetrovací komoře generuje nízké napětí, které vede ke snížení odporu v komoře a je tak nutné použít vyšší energii k dosažení inaktivačního účinku. U produktů s nízkou elektrickou vodivostí (například ovocné džusy s nízkou elektrickou vodivostí v rozmezí od 0,13 do 0,63 S.m⁻¹) je ošetření pomocí PEF efektivnější [5]. Nejlepší výsledky přináší tato metoda ošetření u různých druhů ovocných šťáv (pomerančový, jablečný či brusinkový džus), které jsou charakteristické právě nízkou viskozitou a vhodnou elektrickou vodivostí [1].

Pulsní elektrické pole působí pouze na vegetativní formy mikroorganismů, není schopné likvidovat spory. Proto je metoda vhodná spíše pro kyselé potraviny (pH nižší 4,2), v nichž bakteriální spory, mimo spory rodu *Alicyclobacillus* neklíčí, případně je nutné metodu kombinovat s dalšími konzervačními zákroky, nejčastěji s aseptickým balením ošetřené potraviny [1, 6, 7].

Mikrobiální stimulace pulsním elektrickým polem

Při vystavení stresovým podmínkám mohou reagovat mikroorganismy různými způsoby. Pokud jsou stresové podmínky extrémní, mikroorganismy nejsou schopny adaptace a dochází k jejich inaktivaci. Naopak při mírném stresu na subletální úrovni jsou mikroorganismy schopny přežít díky aktivaci specifických reparačních mechanismů a adaptují se na nové podmínky. Právě tento jev nastává při reversibilní elektroporaci [8, 9, 10]. Reakce na stresové podmínky jsou specifické a závisí na druhu a kmeni konkrétního mikroorganismu a na typu stresového podnětu [11, 12, 13, 14]. Aktivace některých metabolických procesů jako odpověď na stres by mohla mít zásadní vliv na průběh fermentace a mohla by tak vést ke zefektivnění biochemických procesů a mikrobiálních metabolických produktů relevantních pro potravinářský, farmaceutický i biomedicínský průmysl [10].

Pulsní elektrické pole má potenciál být aplikován během biotechnologických procesů v souvislosti s možným zlepšením mikrobiálního růstu a fermentace. Pozitivní vliv PEF na růst mikroorganismů je v doposud publikované literatuře vysvětlen tím, že vlivem elektroporace dochází ke tvorbě pórů v buněčné membráně jako odezva na externí aplikované elektrické pole [14, 15]. Tento jev zvyšuje propustnost buněk a urychluje difúzi iontů a molekul přes buněčnou membránu. Výsledkem je zvýšení příjmu živin a tím ke zrychlení procesu fermentace [10].

Doposud se stimulaci mikrobiálního růstu pomocí PEF věnovalo jen omezené množství studií. Tyto studie inklinují k závěru, že ošetření PEF může zlepšit fermentační proces v

důsledku zvýšení propustnosti membrán (a následného zlepšení buněčného transportu), změn v genetické expresi a zvýšení aktivity některých enzymů. Rizikem je možnost inaktivace mikroorganismů při nevhodně zvolených parametrech ošetření. Může docházet k přehřátí nebo k ireverzibilní elektroporaci, pokud jsou mikroorganismy vystaveny PEF kontinuálně během celého fermentačního procesu. Aby se tyto rizika eliminovala je vhodné ošetřit PEF samotné kultury krátce před očkováním, a nikoli během samotného fermentačního procesu [10].

Metodika

Příprava modelového média: modelový roztok, ve kterém byly mikroorganismy vystavené působení pulsního elektrického pole, byl připraven z destilované vody a peptonu o koncentraci 1 g.l⁻¹. Koncentrace roztoku byla zvolena na základě striktního technologického požadavku firmy VitaveTech s.r.o., že vodivost roztoku včetně bakteriální suspenze nesmí přesáhnout hodnotu 400 μS.cm⁻¹. Takto připravený roztok byl ve skleněných láhvích sterilován v autoklávu 15 minut při 121°C.

Inokulace kvasinkou Saccharomyces cerevisiae: kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* byla uchovávána v lednici ve sladidovém bujónu. Pro vitalizaci buněk byla připravena kvasinková suspenze zaočkováním 100 μl výše zmíněného bujónu s kvasinkovou kulturou do zkumavky se sterilním sladidovým bujonem. Takto připravená kvasinková suspenze byla inkubována v bioreaktoru [RTS-8, Biosan] při 25 °C po dobu 72 hodin. K inokulaci byla použita suspenze o optické denzitě 4 McFarlandy. Objem inokula činil 5ml suspenze na litr peptonového roztoku.

Inokulace bakterií Lactobacillus Plantarum: bakterie *Lactobacillus plantarum* byla uchovávána v lednici v MRS bujónu. Pro vitalizaci buněk byla připravena bakteriální suspenze zaočkováním 100 μl výše zmíněného bujónu s bakteriální kulturou do zkumavky se sterilním MRS bujonem. Takto připravená bakteriální suspenze byla inkubována v bioreaktoru [RTS-8, Biosan] při 37 °C po dobu 96 hodin. K inokulaci byla použita suspenze o optické denzitě 4 McFarlandy. Objem inokula činil 5ml suspenze na litr peptonového roztoku.

Vlastní ošetření pulsním elektrickým polem: ošetření připraveného vzorku proběhlo na přístroji OMNIPEF 002 [VITAVE]. Sterilní zásobník systému PEF byl naplněn 6 l zkoumaného roztoku a uzavřen. Před samotným ošetřením byla tímto roztokem opakovaně propláchnuta komora přístroje.

Během vlastního ošetření pulsním elektrickým polem byl vzorek čerpán skrz komoru o objemu 0,3 ml rychlostí 2,8 ml.s⁻¹, přičemž na něj působilo pulsní elektrické pole o předem zadaných parametrech (viz tabulka 1 a 2).

Tabulka 7: Nastavené parametry pulsního elektrického pole během inaktivace kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*

Číslo vzorku	E [kV.cm-1]	f [Hz]	délka pulsu [μs]	typ pulsu
kontrola	0	0	0	0
1	10	600	5	monopolární
2	10	800	5	monopolární
3	12	400	5	monopolární
4	12	600	5	monopolární
5	12	800	5	monopolární

Tabulka 8: Nastavené parametry pulsního elektrického pole během stimulace bakterie *Lactobacillus plantarum*

Číslo vzorku	E [kV.cm-1]	f [Hz]	délka pulsu [μs]	typ pulsu
kontrola	0	0	0	0
1	2	100	5	monopolární
2	3	100	5	monopolární
3	5	100	5	monopolární
4	6.5	100	5	monopolární
5	5	100	2	monopolární
6	5	100	3	monopolární
7	5	100	5	monopolární
8	5	100	8	monopolární

Po průchodu vzorku komorou byly odebrány vždy tři vzorky do sterilních zkumavek, které byly následně označeny číslem pokusu a aktuálně nastavenými parametry ošetření (frekvence pulsu a intenzita použitého elektrického pole). Následně byly uloženy do chladicího boxu o teplotě 5 ± 3 °C a přepraveny do laboratoře k dalším analýzám.

Hodnocení inaktivace kvasinky Saccharomyces cerevisiae: vzorky, ať již kontrolní, nebo ošetřené, byly naředěny dle potřeby podle pravidel pro desítkové ředění s použitím sterilních fyziologických roztoků. Na Petriho misku byl zaočkován vždy 1 ml odebraného vzorku a přelit YGC agarem, miska byla následně označena číslem vzorku, použitým ředěním a takto připravení Petriho misky byly inkubovány při 25 °C po dobu 72 hodin.

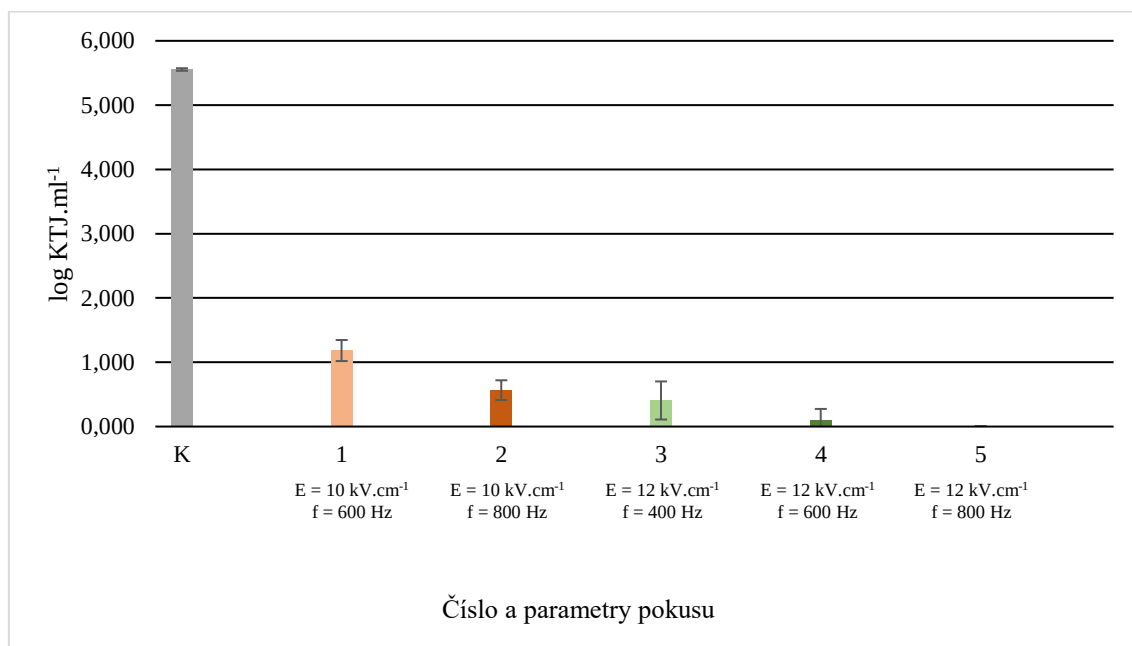
Hodnocení stimulace bakterie Lactobacillus plantarum: z odebraných vzorků byl zaočkován 1ml do zkumavek s 15ml sterilního MRS bujónu. Zkumavky byly umístěny do bioreaktoru [RTS-8, Biosan], kde byly inkubovány při 37°C po dobu 96 hodin.

Statistika: Naměřená data z experimentů byla testována na normality dle Shapiro-Wilk testu ($p < 0,05$) a dále analyzována Studentovým t-testem na rozdíly mezi skupinami na hladině významnosti $p < 0,05$. Statistické analýzy byly provedeny pomocí softwaru Statistica 14.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

Výsledky a diskuse

Inaktivace kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*

Hodnocení účinnosti použití pulsního elektrického pole na mikrobiální inaktivaci bylo provedeno v modelovém médiu s použitím kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Parametry byly nastaveny dle tabulky 1. Vliv nastavených parametrů byl pozorován na základě tří odběrů vzorků. Počet KTJ byl stanoven plotovou metodou vždy z dvou paralel.

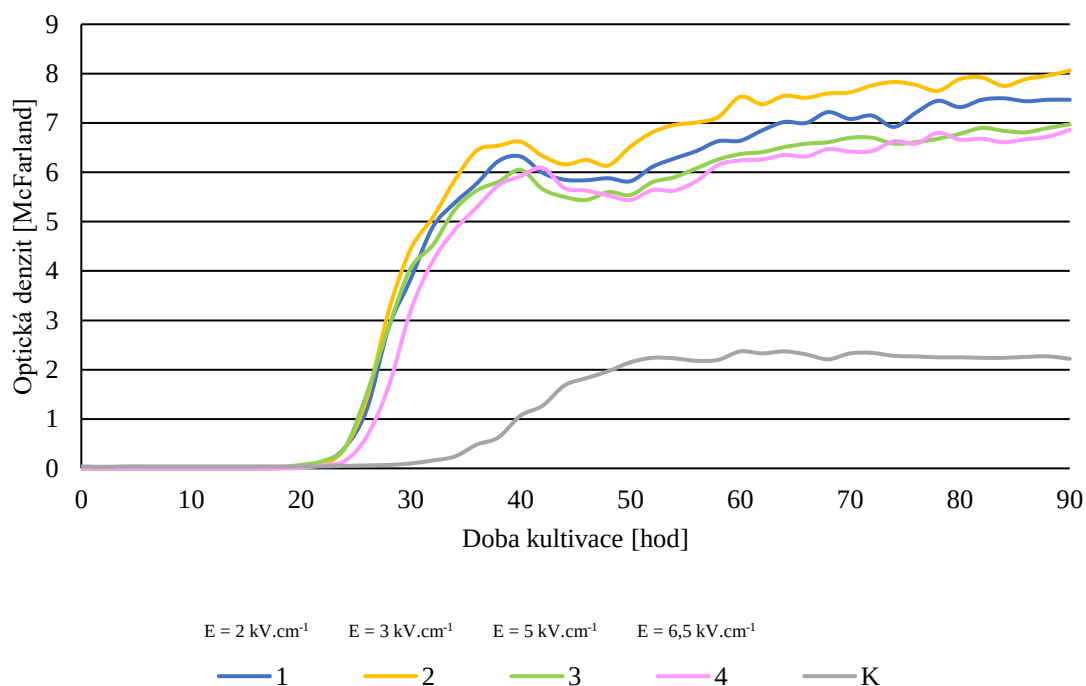


Obr. 1: Graf účinnosti inaktivace na suspenzi kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* v modelovém médiu pomocí pulsního elektrického pole při různém nastavení parametrů

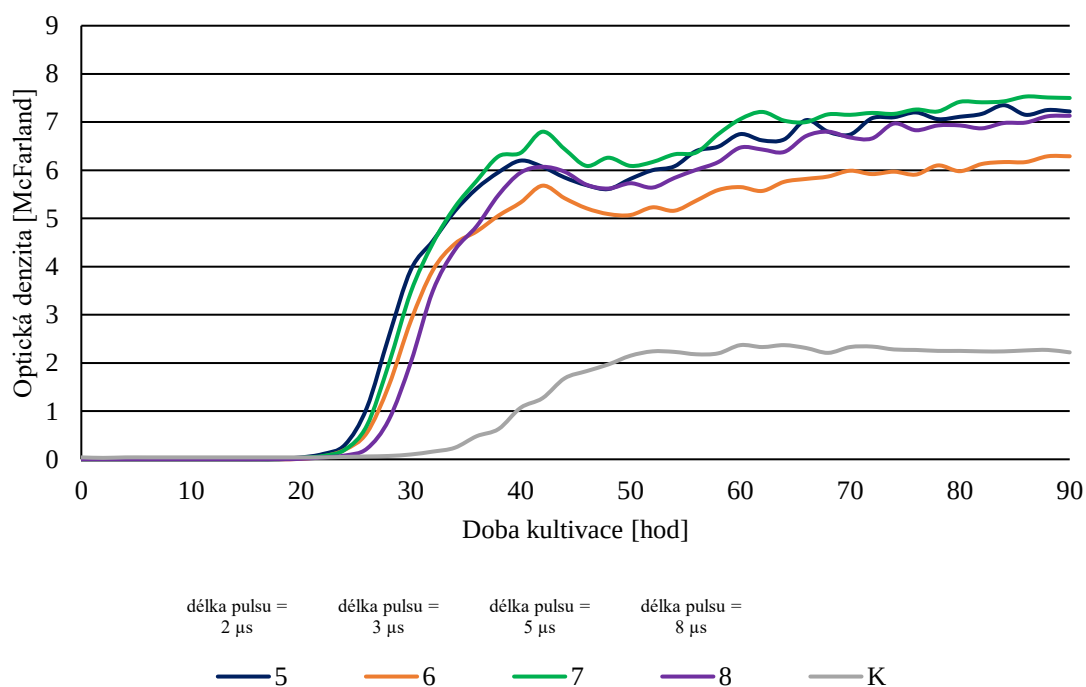
Z grafu (viz Obrázek 1) je zřejmé, že s rostoucí intenzitou elektrického pole a frekvencí pulsů, respektive počtem pulsů aplikovaných na buňku, roste účinnost mikrobiální inaktivace. Data jsou vyjádřena jako průměr z tří odběrů vzorků plus směrodatná odchylka. Nejúčinnější ze sledovaných variant je ošetření suspenze elektrickým polem o intenzitě 12 kV.cm⁻¹ a použití monopolárních pulsů o frekvenci 800 Hz a délce 5 μ s (vzorek č. 5). Bylo dosaženo redukce o 5,5 řádu. K výrazné redukci počtu mikroorganismů o 3,5 řádu došlo i u vzorku číslo 1, na který bylo aplikováno pole o intenzitě 10 kV.cm⁻¹ a nastavením monopolárních pulsů o frekvenci 600 Hz a délce 5 μ s.

Stimulace bakterie *Lactobacillus plantarum*

Hodnocení účinnosti použití pulsního elektrického pole na mikrobiální stimulaci bylo provedeno v modelovém médiu s použitím bakterie *Lactobacillus plantarum*. Parametry byly nastaveny dle tabulky 2. Vliv nastavených parametrů byl pozorován na základě odběru vzorku pro každé nastavení parametrů. Intenzita růstu po ošetření byla hodnocena na základě měření optické denzity při kultivaci v bioreaktoru s intervalem měření 2 hodiny [RTS-8, Biosan].



Obr. 2: Graf intenzity růstu *Lactobacillus plantarum* po ošetření pulsním elektrickým polem s různě nastavenou intenzitou elektrického pole, $f = 100\text{Hz}$, délka pulsu = $5\mu\text{s}$ (vzorky 1-4, K= kontrolní neošetřený vzorek)



Obr. 3: Graf intenzity růstu *Lactobacillus plantarum* po ošetření pulsním elektrickým polem $E = 5\text{kV.cm}^{-1}$, $f = 100 \text{ Hz}$ a různě nastavenou délkou pulsu (vzorky 5-8, K = kontrolní neošetřený vzorek)

Graf (viz obr. 2) znázorňuje vliv použitého elektrického pole na stimulaci růstu bakterie *Lactobacillus plantarum*. Na základě Shapiro-Wilk testu byla testována data z posledních deseti hodin stacionární fáze růstu na normalitu. Na hladině významnosti $p < 0,05$ se charakteristiky naměřených dat statisticky významně neodlišují od charakteristik dat s normálním rozdělením. Na základě studentova t-testu bylo prokázáno na hladině významnosti $p < 0,05$, že vzorky ošetřené pulsním elektrickým polem o různě nastavené intenzitě pole se významně liší od kontrolního vzoru. V rámci testovaných variant se jako nejúčinnější prokázalo použití intenzity elektrického pole 3 kV.cm^{-1} při použití monopolárních pulsů u frekvenci 100 Hz a délce pulsu 5 μs .

Na dalším grafu (viz obr. 3) je demonstrována účinnost ošetření s různou délkou použitých pulsů při zachování stejné frekvence (100 Hz) a intenzity elektrického pole (5 kV.cm^{-1}). Studentovým t-testem na hladině významnosti $p < 0,05$ bylo prokázáno, že růst *Lactobacillus plantarum* byl významně zintenzivněn použitím pulsního elektrického pole s různě nastavenou délkou pulsů ve srovnání s neošetřeným kontrolním vzorkem. Z grafu vyplývá, že nejvyšší stimulace růstu bylo dosaženo použitím monopolárních pulsů o délce 5 μs .

Závěr

Tato práce prokázala inaktivační vliv pulsního elektrického pole na kvasinku *Saccharomyces cerevisiae*. Byla spolehlivě prokázána souvislost mezi intenzitou použitého elektrického pole a frekvencí na jedné straně a inhibičním účinkem na straně druhé. Se zvyšující se intenzitou pole a rostoucí frekvencí pulsů roste i inhibiční účinek PEF na kvasinku *Saccharomyces cerevisiae*. Ve zkoumaném rozsahu parametrů bylo nejlepších výsledků dosaženo při intenzitě elektrického pole 12 kV.cm^{-1} a frekvenci 800 Hz, kdy došlo k poklesu počtu mikroorganismů o 5,5 řádu.

Experiment rovněž prokázal, že výrazné redukce *Saccharomyces cerevisiae* může být dosaženo i při mírnějším nastavení parametrů pulsů. Právě nastavení mírnějších parametrů ošetření je žádoucí z hlediska omezení či eliminace možných elektrochemických reakcí probíhajících v ošetřované potravíně.

Optimalizace intenzity použitého elektrického pole a frekvence pulsů tak mohou být případným předmětem dalších studií, které se budou zabývat potencionálním uvedením PEF pro komerční využití nejen v nápojovém průmyslu.

V rámci sledování vlivu pulsního elektrického pole na bakterii *Lactobacillus plantarum* byla potvrzena testovaná hypotéza, že ošetření při vhodně nastavených parametrech může stimulovat růst této bakterie. Ze zkoumaných variant nastavení parametrů bylo nejvyšší intenzity růstu dosaženo při použití elektrického pulsního pole o intenzitě 3 kV.cm^{-1} , monopolárních pulsů o frekvenci 100 Hz a délce pulsu 5 μs .

Zdroje:

- [1] KRANJC, M., MIKLAVČIČ, D. Electric Field Distribution and Electroporation Threshold. In MIKLAVČIČ, D. (ed.). *Handbook of Electroporation*. Springer International Publishing, 2016, vol. 2, p. 1043–1058. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26779-1_4-1
- [2] BARBA, F. J., PARNIAKOV, O., PREIRA, S. A., WIKTOR, A., et al. Current applications and new opportunities for the use of pulsed electric fields in food science and industry. *Food Res. Int.*, 2015, vol. 77, no. 4, p. 773–798. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.015>
- [3] TEISSIE, J., GOLZIO, M., ROLS, M. P. Mechanisms of cell membrane electroporation: A minireview of our present (lack of?) knowledge. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2005, vol. 1724, p. 270–280. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2005.05.006>
- [4] MOHAME, M. E., AMER, A. H. Pulsed Electric Fields for Food Processing Technology. In (Ed.), *Structure and Function of Food Engineering*. IntechOpen, 2012, DOI: <https://doi.org/10.5772/48678>
- [5] AMIALI, M., NGADI, M., RGHAVAN, V., NGUYEN, D. H. Electrical Conductivities of Liquid Egg Products and Fruit Juices Exposed to High Pulsed Electric Fields. *International Journal of Food Properties*, 2006, vol. 9, p. 533–540. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942910600596456>
- [6] MASTHAN, S. K., CHANDERA, V. R., RAJU, D. N., KUMAR, K. Y., NAIK, K. M. High intensity pulsed electric field processing of foods – a review. *International Journal of Engineering Research & Technology*, 2017, p.113–126. DOI: <http://dx.doi.org/10.17577/IJERTV6IS080062>
- [7] SIEMER, C., TOEPFL, S., HEINZ, V. Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by pulsed electric fields (PEF) in combination with thermal energy II. Modeling thermal inactivation of *B. subtilis* spores during PEF processing in combination with thermal energy. *Food Control*, 2014, vol. 39, p. 244–250. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.09.067>
- [8] HUANG, H., LUNG, H., YANG, B.B., WANG, C. Responses of microorganisms to high hydrostatic pressure processing. *Food Control*, 2014, vol. 40, p. 250–259. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2013.12.007>
- [9] LADO, B. H., YOUSEF, A. E. Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms. *Microbes Infect.*, 2002, vol. 4, p. 433–440. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(02\)01557-5](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(02)01557-5)
- [10] MOTA, M. J., LOPES, R. P., KOUBAA, M., ROOHINEJAD S., BARBA, F. J., DELGADILLO, I., SARAIVA, J. A. Fermentation at non-conventional conditions in food- and bio-sciences by the application of advanced processing technologies. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2018, vol. 38, p. 122–140. <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1312272>
- [11] van de GUCHTE, M., SERRA, P., CHERVAUX, C., SMOKVINA, T., EHRLICH, S. D., MAGUIN, E. Stress responses in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2002, vol. 82, p. 187–216. <https://doi.org/10.1023/A:1020631532202>
- [12] SERRAZANETTI, D. I., GUERZONI, M. E., CORSETTI, A., VOGL, R. Metabolic impact and potential exploitation of the stress reactions in lactobacilli. *Food microbiology*, 2009, vol. 26, p. 700–711. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.007>
- [13] MILLS, S., STANTON, C., FITZGERALD, G. F., ROSS, R. P. Enhancing the stress responses of probiotics for a lifestyle from gut to product and back again. *Microbial cell factories*, 2011, vol.10, p. 1–15. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-S1-S19>
- [14] ZAMFIR, M., GROSU-TUDOR, S. S. Stress response of some lactic acid bacteria isolated from Romanian artisan dairy products. *World journal of microbiology & biotechnology*, 2014, vol. 30, p. 375–384. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1454-6>
- [15] SHIL, P., BIDAYE, S., VIDYASAGAR, P. Analyzing the effects of surface distribution of pores in cell electroporation for a cell membrane containing cholesterol. *Journal of Physics D Applied Physics*, 2008, vol. 41, p. 551–557. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/41/5/055502>

Poděkování: Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A1_FPB_T_2021_004. Experimentální část práce vznikla díky úzké spolupráci s firmou VitaveTech s.r.o.

Kontaktní adresa: Ing. Gabriela Kuncová VŠCHT Praha, Ústav konzervace potravin, FPBT, Technická 166 28, Praha 6 Dejvice, kuncovag@vscht.cz

P13

Možnosti ověření autenticity recyklovaného PET pro potravinářské použití

The possibilities of verifying the authenticity of recycled PET for foodcontact

Michal Mrlík, Lukáš Vápenka, Simona Sedláčková

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

Souhrn

Obaly z polyethyltereftalátu (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.

Ve všech vzorcích recyklovaného PET byl zjištěn obsah čtyř látek: bisfenolu A (BPA), 4-fenylbenzofenonu (FBF), bis(2-ethylhexyl)tereftalátu (DOTP) a 2,5-bis(5-terc-butylbenzoxazol-2-yl)thiofenu (obchodní název Uvitex OB). Po rozpuštění vzorků v hexafluoroisopropanolu byly pomocí GC-MS naměřeny u rPET tyto rozsahy koncentrací: FBF 0,07 – 0,43 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; DOTP 0,20 – 1,53 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; BPA 0,45 – 3,20 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a Uvitex OB 0,12 – 18,41 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. V panenských vzorcích nebyly detekovány nebo byly pod limitem kvantifikace ($<0,02 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Pomocí DART-TOF-MS byly analyzovány vzorky granulátů PET po extrakci acetonitrilem nebo dichlormethanem. Nejlepšího rozlišení panenského PET a rPET bylo dosaženo po extrakci acetonitrilem při pozitivní ionizaci, 250 °C.

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 growing worldwide. Therefore the addition of at least 25% recycled raw materials in PET beverage bottles will be obligatory in the European Union from 2025.

All samples of recycled PET were found to contain four different substances: bisphenol A (BPA), 4-phenylbenzophenone (FBF), bis(2-ethylhexyl)terephthalate (DOTP) and 2,5-bis(5-tert-butylbenzoxazole-2-thiophene (Uvitex OB). After dissolving the samples in hexafluoroisopropanole, the following concentration ranges were measured by GC-MS: FBF 0,07 – 0,43 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, DOTP 0,20 – 1,53 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, BPA 0,45 – 3,20 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a Uvitex OB 0,12 – 18,41 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. They were not detected in virgin samples or were below the limit of quantification ($<0,02 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Samples of granules of PET were analyzed by DART after extraction by acetonitrile or dichlormethane. The best resolution of virgin PET and rPET was achieved after extraction with acetonitrile at positive ionization, 250 °C.

Klíčová slova: polyethyltereftalát, PET, recyklace, autenticita, bisfenol A, DART

Úvod

Celosvětová roční produkce stále stoupá. V roce 2020 bylo vyprodukováno 367 milionů tun plastů (o 11 let dříve to bylo o třetinu méně). Více než 40 % celosvětové produkce plastů se spotřebuje na obaly a jedná se tak o největší segmentem, následující tři největší segmenty (stavebnictví, automobilový průmysl a elektronika) mají dohromady menší roční spotřebu plastů než samotné obaly. Polyethylentereftalát (PET) patří mezi šest plastů s největší produkcí¹⁻³.

Plastové obaly jsou obvykle na jedno použití, z pohledu biodegradace jsou však velmi stabilní a způsobují v životním prostředí značné problémy (poškozuje zejména mořské ekosystémy, více než 80 % z odpadu nalezeného v mořích EU tvoří plasty, většina na jedno použití)^{3, 4}.

Z těchto důvodů v roce 2019 vyšla v platnost směrnice EU, zavazující členské státy od roku 2025 přidávat do všech vyrobených nápojových lahvích z PET alespoň 25 % recyklované suroviny, o pět let později minimálně 30 %. Problémem je, že recyklovaná surovina má o něco horší vlastnosti, než nově vyrobený (tzv. panenský) PET (nižší mechanickou pevnost, horší optické vlastnosti – nižší světlost a mírné zažloutnutí) dále pak vyšší cenu oproti panenskému PET. Z těchto důvodů se nabízí potenciální riziko záměny dražšího rPET za panenský PET⁴⁻⁶.

Experimentální část

Chemikálie

Acetonitril pro HPLC-MS, dichlormethan pro GC-MS, methanol pro HPLC, pyridin p.a., bisfenol A, 4-fenylbenzofenon, bis(2-ethylhexyl)tereftalát a N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid s 1 % trimethylchlorosilanu (BSTFA s 1 % TMCS) (vše Sigma-Aldrich), 2,5-bis(5-terc-butylbenzoxazol-2-yl)thiofen (Thermo Fisher Scientific), hexafluoroisopropanol p.a. (Fluorochem).

Vzorky

Testováno bylo celkově 15 vzorků od pěti různých subjektů, 11 vzorků bylo ve formě granulátu (5 panenských, 5 rPET a 1 směsný s 10%rPET), 4 vzorky byly preformy s obsahem 0 % rPET (100% panenský PET), 25 %, 50 % a 80 % rPET.

GC-MS

Plynový chromatograf GC 6890 (Agilent Technologies, USA), hmotnostní spektrometr Agilent 5973 N (Agilent Technologies, USA), kolona Agilent J&W DB-5 ms, délka 30 m, tloušťka stac. fáze 0,25 μ m, vnitřní průměr 0,25 mm (Agilent Technologies, USA), předkolona Agilent Fused silica, deaktivována, délka 1,5 m, vnitřní průměr 0,25 mm (Agilent Technologies, USA), energie elektronové ionizace 70 eV, teplota 280 °C, mobilní fáze: helium, průtok 1,0 ml/ml, lineární rychlost 36,0 cm/s, nástřik vzorku: splitless, teplota nástřiku 290 °C, teplotní program pece 1 (pro screening): začátek 60 °C po dobu 5 minut, nárůst rychlostí 10 °C/min na 320 °C a výdrž při této teplotě po dobu 20 minut, měřeno v módu TIC. Teplotní program pece 2 (cílená analýza): začátek 60 °C, nárůst rychlostí 40 °C/min na 325 °C a výdrž při této teplotě po dobu 15 minut, měřeno v módu SIM.

Za účelem screeningu byly vzorky PET (10 g) rozmlety a extrahovány dichlormethanem nebo acetonitrilem (100 ml) za varu pod zpětnými chladiči po dobu jedné hodiny. Po zchladnutí byly vzorky přefiltrovány a zakoncentrovány na rotační vakuové odparce na 2 ml. Následně byla provedena necílená analýza pomocí plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS).

Pro cílenou analýzu byly vzorky PET (1,4 g) rozpuštěny v hexafluoroispropanolu (HFIP) (12,5 ml) během čtyř hodin v ultrazvukové lázni, následně byl PET precipitován přidávkem methanolu (20 ml), chlazen 1 h při 4 °C a odstředěn (30 min, 7 000 rpm). Supernatant byl odpařen na rotační vakuové odparce do sucha a odparek rozpuštěn v 300 µl DCM. FBF, DOTP a Uvitex OB byly měřeny přímo, BPA po derivatizaci, která proběhla za následujících podmínek: dichlormethan byl odpařen v sušárně při 65 °C, kam byla umístěna otevřená vialka se 100 µl vzorku v insertu (během asi 5 minut).

Poté bylo do insertu odměřeno 50 µl pyridinu a 50 µl BSTFA s 1 % TMCS. Následně byla uzavřená vialka minutu ručně protřepávána a poté byla vložena do sušárny na 25 minut při 65 °C. Po uplynutí této doby byla vialka vyjmuta, protřepána a připravena pro GC-MS analýzu.

DART-TOF-MS

DART ion sense, řídicí jednotka, model SVP 100, Ion Sence Inc., USA – Hmotnostní spektrometr 6530 Accurate-Mass LC/Q-TOF-MS, model G6530C, Agilent Technologies, USA, Vzorkovací tyčinky Dip-it™, Ion Sence Inc™, USA. Rychlost zásobníku s tyčinkami 1 mm·s⁻¹, ionizační plyn helium (průtok 3,5 dm³·min⁻¹, teplota 250 °C). Napětí na fragmentoru 175 V, na skimmeru 65 V, měřící rozsah *m/z* na TOF-MS 100–1500, rychlost snímání spekter 1 spektrum/s.

Pro měření DART-TOF-MS byly vzorky PET připraveny stejným způsobem jako pro screening GC-MS (extrakce dichlormethanem nebo acetonitrilem a následné zakoncentrování vzorků).

Výsledky a diskuse

Ve vzorcích granulátů rPET byl během screeningu zjištěn obsah čtyř různých látek: bisfenol A (BPA), 4-fenylbenzofenon (FBF), bis(2-ethylhexyl)tereftalát (DOTP) a 2,5-bis(5-terc-butylbenzoxazol-2-yl)thiofen (obchodní název Uvitex OB).

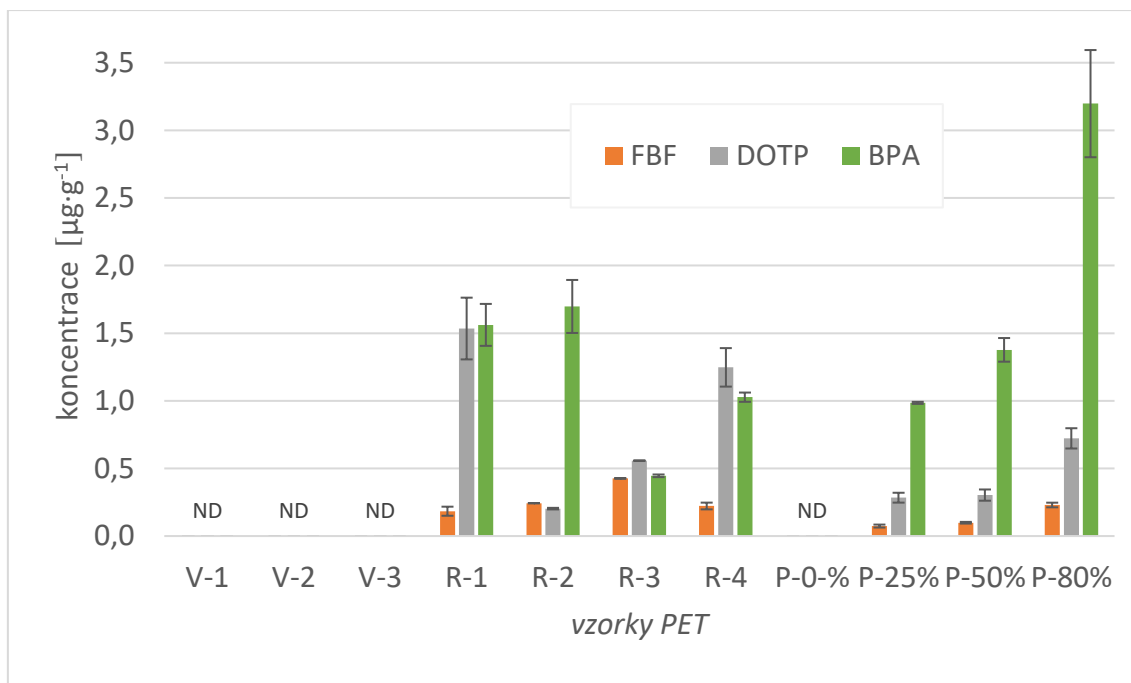
Za účelem kvantifikace jejich obsahu byly vzorky granulátů rPET, virgin PET a preforem rozpuštěny v HFIP. Ve vzorcích s obsahem rPET byl zjištěn obsah sledovaných látek v následujícím rozpětí: (FBF (0,07 – 0,43 µg·g⁻¹), DOTP(0,20 – 1,53 µg·g⁻¹), BPA (0,45 – 3,20 µg·g⁻¹) a Uvitex OB (0,12 – 18,41 µg·g⁻¹)). V panenských vzorcích nebyly detekovány nebo byly pod limitem kvantifikace (<0,02 µg·g⁻¹). Viz obrázky 1 a 2.

FBF je používán jako fotoiniciátor v tiskařských inkoustech a DOTP je změkčovadlo, které není povoleno dle nařízení komise (EU) č. 10/2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami. Obě látky jsou považovány za kontaminanty rPET, stejně tak BPA.

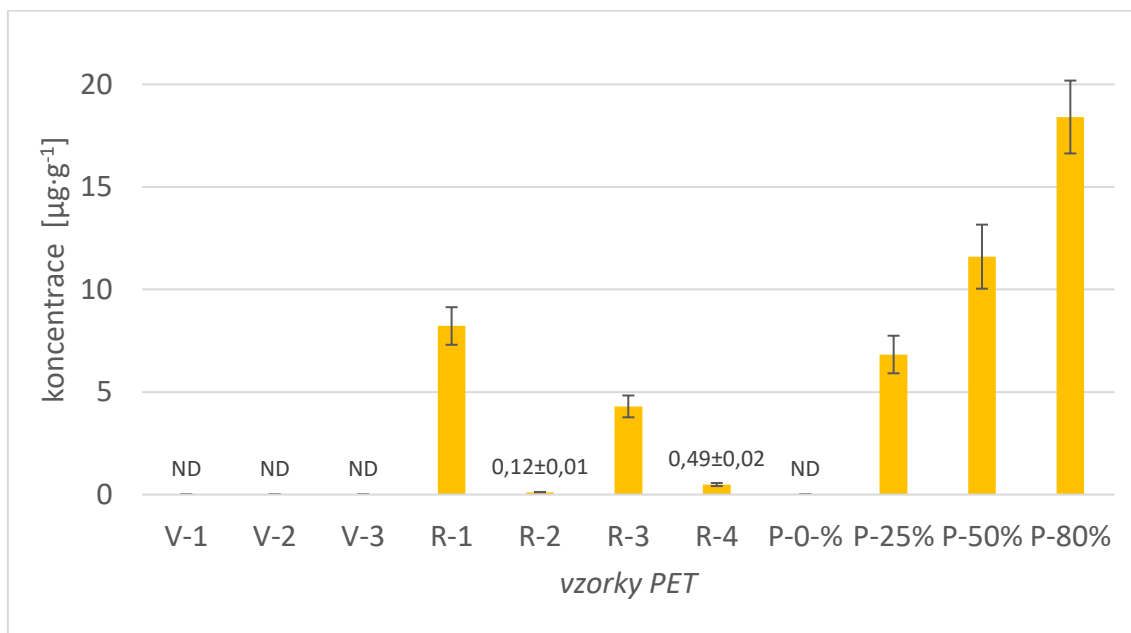
Uvitex OB je povolená přídatná látka, má funkci tzv. optického zjasňovače, který se běžně do PET nepřidává, ale během recyklace se zhoršují optické vlastnosti PET (žloutne a stává se méně průsvitný), proto je tato látka považována za záměrně přidávanou do

některých rPET materiálů, u dvou granulátů (R-2 a R-4) se vzhledem k nízkým koncentracím bude jednat spíše o kontaminaci během zpracování.

Všechny čtyři markery zjištěné pomocí GC-MS (BPA, Uvitex OB, FBF a DOTP) se jeví jako vhodné pro rozlišení panenského PET od rPET. Bylo by vhodné analyzovat větší soubor vzorků od různých zpracovatelů rPET.

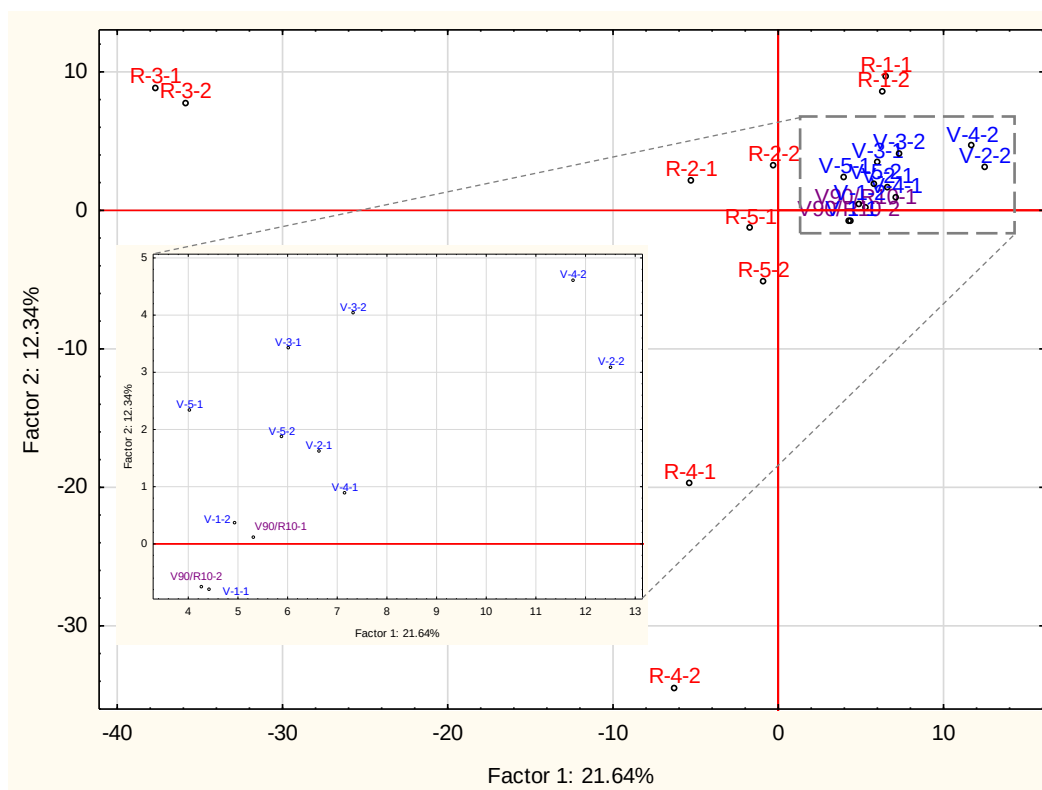


Obrázek 1: Obsah FBF, DOTP a BPA ve vzorcích PET. V-1 až V-3 panenský PET; R-1 až R-4 rPET; vzorky začínající P- jsou preformy s uvedeným procentuálním obsahem rPET. ND – nedetekováno

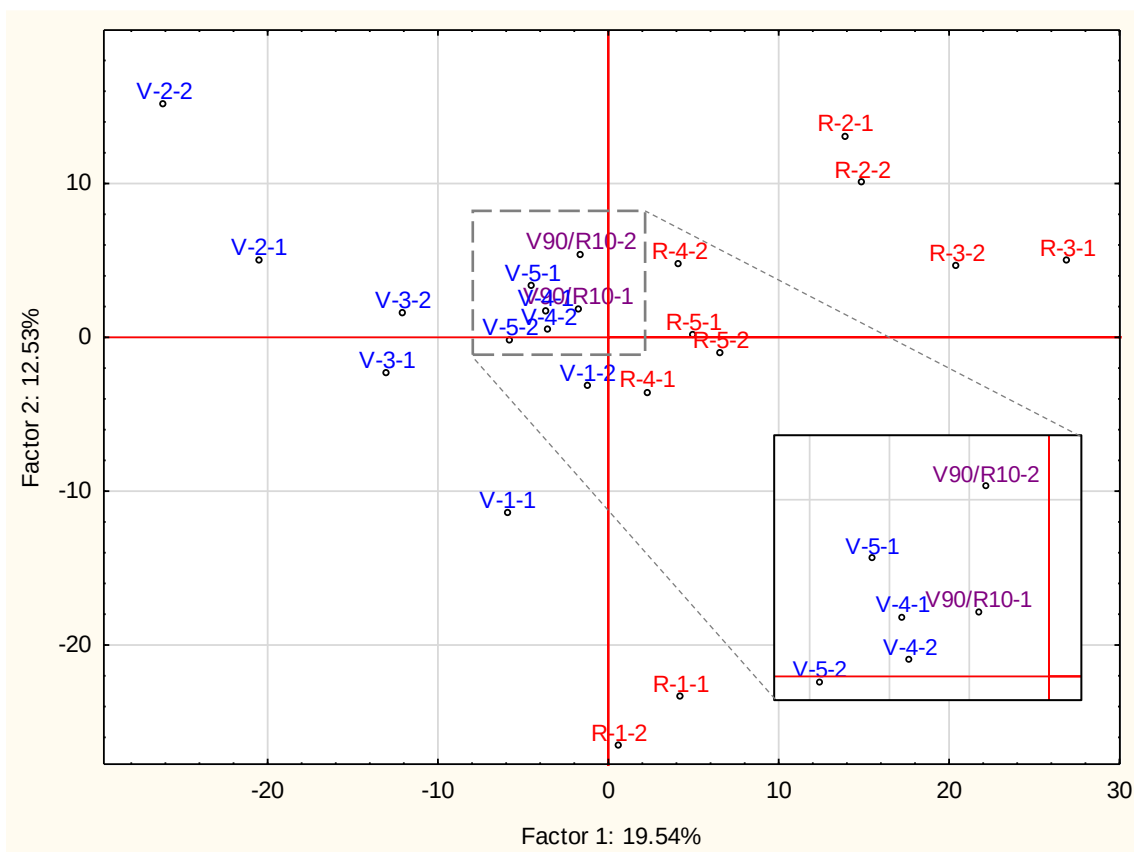


Obrázek 2: Obsah Uvitexu OB ve vzorcích PET. V-1 až V-3 panenský PET; R-1 až R-4 rPET; vzorky začínající P- jsou preformy s uvedeným procentuálním obsahem rPET. ND – nedetekováno

Pomocí DART-TOF-MS byly vzorky rozlišeny při použití obou extrakčních činidel i obou módů ionizace, nejlépe po extrakci acetonitrilem a ionizaci v pozitivním módu. (viz obrázek 3).



Obrázek 3: DART-TOF-MS analýza vzorků PET – analýza hlavních komponent (PCA). Extrakce acetonitrilem, pozitivní mód. Do grafu vložena zvětšená oblast. V-1 až V-5 panenský PET (modře); R-1 až R-5 rPET (červeně); V90/10 vzorek s obsahem 10 % rPET (fialově). Vždy dvě paralelní stanovení (např. V-1-1 a V-1-2), platí i pro následující obrázky.



Obrázek 6: DART-TOF-MS – PCA. Extrakce dichlormethanem, negativní mód.

Závěr

Všechny zkoumané materiály s rPET obsahují kontaminanty BPA, DOTP a FBF. Naopak v materiálech z panenského PET nebyla tato látka detekována nebo byla pod limitem kvantifikace. Ve všech materiálech rPET je optický zjasňovač Uvitex OB, u některých vzorků je považována za záměrně přidávanou pro zlepšení optických vlastností materiálu, u dvou vzorků granulátu rPET kvůli výrazně nižším koncentracím je předpokládáno, že se jedná o kontaminaci z výroby. Panenský PET jej neobsahuje. Výše zmíněné látky by mohly posloužit jako markery rPET pro jeho odlišení od panenského PET.

Panenský PET se podařilo rozlišit od rPET také pomocí DART-TOF-MS po extrakci acetonitrilem nebo dichlormethanem a analýze hlavních komponent, nejlépe po extrakci acetonitrilem a ionizaci v pozitivním módu.

Kontaktní adresa: mrlikm@vscht.cz

Poděkování: *Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt A1_FPBT_2021_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 2021: An analysis of European plastics production, demand and waste data. PlasticsEurope, association of plastic manufacturers: Brussels, Belgium, 2021. <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2021/>
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

FERMENTED MEAT PRODUCTS IN VIETNAM

Vietnamské fermentované masné výrobky

Ngo Vo Thien Nhan, Beňo Filip, Pohůnek Václav, Ševčík Rudolf

Department of food preservation, University of Chemistry and Technology Prague,
Technická 3, 166 28 Prague 6 – Dejvice, Czech Republic

Abstract:

In recently, the use of fermented foods is becoming more and more popular around the world, demonstrating the diversity in the food processing industry in general and in meat processing. Vietnam has a long history of numerous traditional fermented products that contain a range of microorganisms with favorable technological, preservative, and organoleptic properties for food processing as well as other functional properties [3]. Traditional fermented meat in Vietnam is one of the unique dishes with raw meat processing method and natural fermentation process, giving it a distinct flavor compared to other fermented meat products. However, fermented meat products in Vietnam are still poor in type, quantity, quality and especially safety. They are often handcrafted with the natural fermentation of raw meat, and input control is mainly based on experience. From there, the product has a high risk of spoiling and affecting the quality, especially the contamination of pathogens during the production and processing [1]. *Nem chua* is a traditional Vietnamese type of lactic acid (LAB) fermented meat, eaten raw [2]. The taste and quality of finished products depend on fermentation and post-processing time. Color is determined by the amount of protein. The pH of the product decreases during fermentation, resulting in gelation of the substrate protein and myofibrillar [13]. This product is popular in all localities in Vietnam with some slight differences in appearance and accompanying spices. Besides *Nem chua*, Sour fermented pork called *Thịt lợn chua* is also a fermented meat product, but not as popular as *Nem chua*. *Thịt lợn chua* is a traditional fermented food in Phu Tho Province, Northwestern Vietnam. The main ingredient is roasted pork and rice flour, the product has a characteristic sweet and sour taste, has a golden brown color, can be served with fig or guava leaves.

Studies on Vietnamese traditional fermented foods mainly focuses on microbial biodiversity and technological and sensory properties such as lactic acid production, flavor development and food preservation; However, survey data, comparison of product structural characteristics are not available and not available for practical use. The study of product structural properties helps to improve product quality, improve production processes towards products of

the best quality and safe for users' health. This review summarizes data on traditional Vietnamese fermented meats represented by *Nem chua*.

Key words: fermented foods, meat products, Nem Chua, Thịt lợn chua

1. INTRODUCTIONS

Vietnam, located in Southeast Asia, is a tropical and populous country with a long history of many traditional fermented products. Unlike Western countries with large-scale industrial production, in Vietnam these foods are mainly produced in households or on a small scale. small in a method passed down from generation to generation. Most of Vietnam's traditional fermented products are handmade products and are closely related to the local natural microbiome [3]. However, data on traditional Vietnamese fermented foods are limited. Currently, fermented meat products in Vietnam are quite poor in terms of variety and quantity; most are produced manually according to natural fermentation process leading to unstable product quality. Especially, meat materials have a high risk of being contaminated with pathogenic microorganisms belonging to the family Enterobacteriaceae, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp... During manual slaughter, transportation and preservation [1]. Traditionally fermented foods are a source of local microorganisms with important properties. In recent years, lactic acid bacteria (LAB) present in sour fermented foods have been significantly studied for their technological, organoleptic properties [5], [6] and biological preservatives in processing. Out. food processing [8], [10]. Probiotics are live microorganisms that are consumed as food or supplements in sufficient quantities and reside in the host cavity to exert health benefits [22]. A surveillance study reported the existence of Vietnamese-origin LAB strains isolated from traditional fermented foods, local yogurt products and human products (breast milk and infant feces). neonates) [23]. Currently, in addition to sketchy studies on the hygiene situation of small-scale processing facilities in Vietnam, research on the Structure Analysis (TPA) of *Nem chua* in different regions is not available. . The study of the differences between the structure of *Nem chua* products between regions helps to optimize the product structure, increase the storage time, and create the homogeneity between the products.

2. FERMENTED MEAT PRODUCTS IN VIETNAM

Traditional Vietnamese fermented meat products are mainly fermented for short periods of time. The final produced usually have a sour taste, are used for direct consumption or stored at 4 – 8 °C, and have a short shelf life. Similar to other Asian cuisines, raw materials used for preparing traditional Vietnamese fermented meats are usually meat (pork, cow. ...). Herbs and spices such as garlic, black or red pepper, green onion, and ginger, are often used as minor ingredients. Fermentation temperature largely depends on natural environment. It may also be

controlled by leaving the food in the sun or in the shadow depending on the traditional procedure. Vietnam is a long-shaped country with different soil and climate conditions depending on the latitude. Therefore, traditional fermented foods may feature local produce or may be common throughout the country, with only slight modifications. These products are often consumed daily as appetizers or side dishes.

The taste and quality of the finished product depends on the process time. Color is determined by the amount of protein. The pH of the product decreases during fermentation, resulting in gelation of substrate proteins and myofibrillar [13]. Currently in the food industry, starter and protective cultures are used instead of relying on natural microbiota to ensure the organoleptic and microbiological quality of fermented meat products. During the fermentation process, different types of bacteria were discovered, which inhibit the growth of other pathogenic and spoiled microorganisms. [14,15].

A list of the most popular Vietnamese fermented foods is given in Table 1.

Product name	Product	Ingredients	Origin	Reference
Short-term fermentation				
<i>Nem chua</i>	Appetizer	Raw pork lean, rind, powder roasted rice, spices, salt	Countrywide	[4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11]
<i>Thit lon chua</i> Sour fermented pork	Appetizer	Pork, powder roaste	Phu Tho province	[12]

Nem chua



Figure. 1. *Nem chua*

Nem chua (Figure. 1) is the name of sour fermented meat, which is popular traditional fermented meat product in Vietnam. *Nem chua* is a well-known Vietnamese traditional fermented meat product, which is nutritious and delicious with typical characteristics from each region where it is made [18]. *Nem chua* processing is popular in different regions of the country (Figure 2).

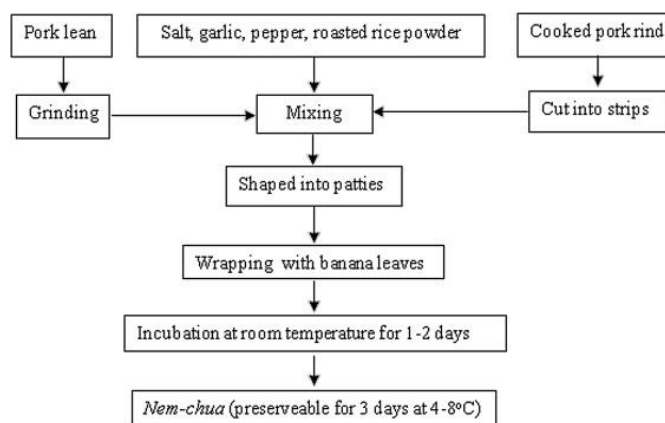


Figure. 2. Flow chart for preparing *Nem chua*. [16]

The main ingredients of *Nem chua* include: Finely ground lean pork (95% protein), boiled and thinly sliced pork skin (5% protein), tapioca flour and roasted rice, salt (about 2% weight), spices taste (pepper and garlic...). The ingredients are mixed according to the recipe, then divided into small portions, which can be shaped into squares or cylinders, topped with herbs such as guava leaves, garlic or chili peppers (depending on the locality. careful packaging) prevents the penetration of air, thus creating an anaerobic environment, conducive to LAB growth and natural ripening of the product, after 2-3 days the product reaches ripe and can be eaten immediately. The ripening time of the Product may depend on the ambient temperature (20–37°C). Traditional methods of making *Nem chua* act as a source of carbohydrates for LAB growth and contribute to the sour taste. Producers sometimes use a piece of fermented *Nem chua* from the previous batch as a starting feed to produce a new batch. Eat without cooking [19,20, 21]

Nem chua is processed by the process:

- Prepare main ingredients including meat (pork) and skin (pork). Pork is usually pork rump and tenderloin, carefully selected to ensure the standards of clean, fresh meat, meeting the prescribed criteria. Clean the bristles, remove the tendon membrane to ensure the quality of meat ingredients, then cut into homogeneous parts to facilitate the grinding process
- Meat is cooled before and during grinding (temperature < 50°C) the purpose is to retain water in the meat, increase adhesion and increase the quality of spring rolls (increase

- toughness, crunch). The meat is then put into a blender, mixed with sugar, salt, and fish sauce. Follow up until the ingredients are homogeneous, stop grinding.
- Pork skin is selected to ensure the prescribed standards, then shaved and brought in boiling water.
 - Pig skin after boiling is cleaned again and cut into convenient sections for thin slicing, then chopped to prepare for the spring roll making process.
 - Raw meat and leather are put into mixing equipment or hand-blended together with roasted rice, pepper, salt, sugar, fish sauce, monosodium glutamate, fermented powder (if used). Mix until the ingredients are homogeneous, stop and divide into small parts to repack. Depending on the type of product, the size and shape may vary, most commonly in the form of a square or cylinder, and the weight ranges from 100 grams to 500 grams depending on the type of product.
 - The process of packaging and shaping spring rolls includes 2 quantitative and forming stages.
 - *Nem chua* is quantified and attached with 1 slice of garlic, chili can be pepper and wrapped with guava leaves, *polyscias fruticosa*. Then the spring rolls were covered with a layer of PE to ensure tightness. Finally, a layer of banana leaves covers the outside to facilitate the fermentation process and create a characteristic shape for the product (square, cylindrical). Then fasten with rubber strap, nylon.
 - Track the fermentation of products. After being packaged as finished products, they will be put into the fermentation area, fermentation time is about 24 hours if using fermented flour or 2-3 days if naturally fermented. The fermentation area should be kept away from contaminated conditions and cool temperature. Be sure to sort according to FIFO principle when entering the fermentation area to ensure products are not confused by overdue when being sold for consumption. A qualified spring roll product is a product that, when opened, has a characteristic beautiful red color, sour taste and aroma, without the stench of raw meat, which is ready to use.
 - Sensory assessment of products through the following factors:
 - + Visual: red, beautiful, normal shape
 - + Tactile: evaluate elasticity, normal temperature of the product
 - + Smell: evaluate the characteristic aroma of the product
 - + Taste: typical sour taste of sour, spicy spring rolls products of chili, pepper, garlic
 - + Evaluate the toughness, brittleness of the product, the cut surface, texture status

At the end of the fermentation process the cell density of LAB is quite high ($9 \pm 1,3$) (lg (CFU/g)), reducing the pH of the product (4.64–4.77), now it is necessary to must control the biosafety level of the product within an acceptable threshold [5]. Results of microbiological analysis of 60 *Nem chua* samples collected from different provinces across the country (Hanoi, Thanh Hoa, Hue and Ho Chi Minh City) in different seasons (from March 2008 to May 5 years 2010) showed that LAB accounts for 80% - 100% of total aerobic bacteria (TABC) in the samples. Accordingly, the percentage of microorganisms in the tested product is *Lactobacillus brevis* (9.5%), *Pediococcus pentosaceus* (21.6%), *Lactobacillus farciminis* (1, 3%), *Lactobacillus plantarum* (67.6%) [6]. *Nem chua* obtained from the central province of Hue has other bacteria such as *Bacillus amyloliquefaciens* strain N1 that produce high levels of extracellular protease, which promotes the maturation of fermented pork roll and gives it a characteristic texture [11].

Sour fermented pork (called *Thịt lợn chua*)



Figure. 3. *Thịt lợn chua*

Although it is a fermented meat product, *Thịt lợn chua* is not as popular as *Nem chua*. *Thịt lợn chua* is sour fermented pork, a traditional fermented food in Phu Tho province, Northwest of Vietnam. The main ingredients are pork and roasted rice flour. Manufacturing process: pork is roasted first on embers; thinly sliced; mixed with roasted rice flour (20%), salt (about 1.5%), sugar (1%–3%), and spices; It is then fermented at about 30 ° C for 3-5 days. The final product has a characteristic sweet and sour taste, is golden brown in color and can be served with fig or guava leaves. The final product has a moisture content of 64%, a protein content of 17%, a lipid content of 11%, a pH of approximately 5.0 and a LAB density of 8.3 (lg (CFU / g)). After storing for 4 days in the refrigerator, the pH of the product was reduced to 4.7 and the LAB density was maintained at the old level. One study successfully used *Lb. plantarum* H1.40 was isolated from *Nem chua* for fermentation of *Thịt lợn chua* [12].

3. LIMITATIONS OF PROCESS FERMENTED MEAT PRODUCT

Around the world, the production of fermented meat and ready-to-eat products, often without heat treatment, depends on a number of factors and varies considerably from country to country. In Vietnam, this process varies from region to region (North, Central, South) and is mainly small-scale production according to processing methods and customs passed down from generation to generation. *Nem chua* is a typical culinary product, representing the rich culinary culture of Vietnam. The feature of this product is that raw meat is fermented by LAB and cooked for 2-3 days. The final product has a characteristic, slightly acidic color and odor. However, some products can be easily damaged or of poor quality due to poor quality raw materials and unsafe processing. The process of transporting and storing the product does not ensure temperature, air, and light, causing the product to be damaged. The cause of product damage can be caused by bacteria that make the product sour, difficult to smell, and unusable. Much of the fermentation at production facilities takes place naturally following ancient traditional methods, which are largely based on experience rather than science. This raises concerns about the hygiene of this product. Author Truong et al. (2004) provided an overview of *Nem chua* production process and practices in Vietnam and conducted a survey of the sanitary status of *Nem chua* from two typical producers and resulted in *E. coli* and *S. aureus* were both high (104 CFU/g). in the finished product. They concluded that the product poses a high risk to health due to the nature of the product and the potential for contamination during processing (Truong et al., 2004). Currently, in addition to sketchy studies on the hygiene situation of small-scale processing facilities in Vietnam, research on the Structural Analysis (TPA) of *Nem chua* products in different regions is hardly have. The study of TPA differences between products will contribute to improving the quality of *Nem chua* products, upgrading the production process to meet common conditions in other markets.

4. CONCLUSION

Fermented meat products, although not occupying a large number of the market, are being welcomed by consumers because of their characteristic delicious taste, natural fermentation process does not use preservatives, does not affect people. consumption. health of consumers. Compared to fermented meat products in European countries such as the Czech Republic, whose main product is dried sausage, traditional Vietnamese fermented meat (*Nem chua*) is a completely different product. Due to the difference from preliminary processing and processing, the taste and flavor of the product is completely different from the dried sausage. This is a unique new product compared to the food market in the Czech Republic.

Nem chua is a traditional Vietnamese fermented meat, is a rich source of probiotics and useful microorganisms, making an important contribution to the daily nutritional intake of people.

Depending on the locality, there are different ways of processing, but most of them are still on the scale of households producing handicrafts. In addition, the assurance of the requirements on limits of contamination in products has not been studied and understood in depth. In addition, the product proposal can be improved in quality (pollution criteria, nutritional content), possibly suitable for the European market such as the Czech Republic, which requires further investigation and research. a comparison of traditional fermented meat products of Vietnam and the Czech Republic.

Acknowledgement: This work was supported from the grant of Specific university research – grant No A1_FPBT_2021_004.

5. REFERENCES

1. Phan T.T, Le.T.B.T. *Screening and Selection of Lactic Acid Bacteria with High Antimicrobial Activity for Fermented Sausage Production in Vietnam*, 57th International Congress of Meat Science and Technology, 7-12 August 2011, Ghent-Belgium.
2. H.T.H. Nguyen, F.B. Elegado, N.T. Librojo-Basilio, R.C. Mabesa⁴ and E.I. Dizon. *Isolation and characterisation of selected lactic acid bacteria for improved processing of Nem chua, a traditional fermented meat from Vietnam*. Beneficial Microbes, 2010; 1(1): 67-74]
3. Nguyen La Anh, *Health-promoting microbes in traditional Vietnamese fermented foods: A review*, Food Science and Human Wellness, Volume 4, Issue 4, 2015, Pages 147-161, ISSN 2213-4530
4. T.T. Phan, H.T. Do, H.L. Tran, et al. Isolation and characterization of *Lactobacillus plantarum* H1.40, from Vietnamese traditional fermented meat (Nem-chua) Proceedings of the Regional Symposium on Chemical Engineering, Hanoi, Vietnam (2005), pp. 121-125
5. K.T.M. Tran, P.J. Coloe, M.T. Le, B.K. May, Evaluation of the microbiological quality of traditional fermented sausage, J. Sci. Technol. (Vietnam), 49 (1A) (2011), pp. 276-283
6. M.T. Le, H.P. Ho, H.T.L. Hoang, et al. Exploring the microbiota of Vietnamese fermented food to improve food quality and safety, J. Sci. Technol. (Vietnam), 49 (6A) (2011), pp. 93-101

7. N.T.L. Doan, K. Van Hoorde, P. Vandamme, et al. Validation of MALDI-TOF MS for rapid classification and identification of lactic acid bacteria, with a focus on isolates from traditional fermented foods in Northern Vietnam, *Lett. Appl. Microbiol.*, 55 (2012), pp. 265-273.
8. A.L. Nguyen, H.T. Dang, A.V. Nguyen, et al. Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* NCDN4 with application as starter for quality improvement of traditional fermented products, *Proceedings of the 4th National Scientific Conference on Biochemistry and Molecular Biology for Agriculture, Biology, Medicine and Food Industry*, Hanoi, Vietnam (2008), pp. 260-263.
9. P. Komkhae, C.H.H.C. Nguyen, D.N.D. Doan, Identification of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from traditional fermented meat “Nem chua” in Mekong delta, Vietnam *Proceedings of the National Biotechnology Conference*, vol. 2, Hanoi, Vietnam (2013), pp. 294-297.
10. A.L. Nguyen La Anh, H.T. Dang, J. Shima, et al. Characterization of bacteriocin produced by a strain *Lactococcus garvieae*. *Proceedings of the Regional Symposium on Chemical Engineering*, Singapore (2006), pp. 187-188.
11. T.T.B. Do. The factors effect on extracellular protease production of *Bacillus amyloliquefaciens* N1 isolated from Hue ‘Nem chua’, *J. Sci. (Hue Univ.)*, 71 (2) (2012), pp. 279-290
12. T.T. Phan, Study on production of Thanhson (Phutho) fermented meat using starter culture, *J. Sci. Technol. (Vietnam)*, 49 (1A) (2011), pp. 416-424
13. Toldrá, F. The role of muscle enzymes in dry-cured meat products with different drying conditions. *Trends Food Sci. Technol.* 2006, 17, 164–168. [CrossRef]
14. Cintas, L.M.; Rodriguez, J.M.; Fernandez, M.F.; Sletten, K.; Nes, I.F.; Hernandez, P.E.; Holo, H. Isolation and characterization of pediocin L50, a new bacteriocin from *Pediococcus acidilactici* with a broad inhibitory spectrum. *Appl. Env. Microbiol.* 1995, 61, 2643–2648. [CrossRef] [PubMed]
15. Drider, D.; Fimland, G.; Héchard, Y.; McMullen, L.M.; Prévost, H. The continuing story of class IIa bacteriocins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2006, 70, 564–582. [CrossRef]
16. Nguyen La Anh, Health-promoting microbes in traditional Vietnamese fermented foods: A review *Food Industries Research Institute*, 301 Nguyen Trai Rd, Thanhxuan Distr., Hanoi 100000, Viet Nam
17. Inmaculada Gómez , Rasmi Janardhanan , Francisco C. Ibañez and María José Beriain , The Effects of Processing and Preservation Technologies on Meat Quality: Sensory and Nutritional Aspects. *Foods* 2020, 9, 1416; doi:10.3390/foods9101416.

18. Khanh Thi-Minh Tran, Peter Coloe, Mai Thanh Le, Bee K. May - Nem chua, a Vietnamese traditional fermented sausage: A look into its safety, Food Innovation Asia Conference in Thailand, 07/ 2009.
19. Nguyen H., Elegado F., Librojo-Basilio N., Mabesa R., Dizon E. Isolation and characterisation of selected lactic acid bacteria for improved processing of Nem chua, a traditional fermented meat from Vietnam. *Benef. Microbes.* (2010);1:67–74. doi: 10.3920/BM2009.0001.
20. Nguyen D. T. L., Cnockaert M., van Hoorde K., de Brandt E., Snauwaert I., Snauwaert C., de Vuyst L., Le B. T., Vandamme P. *Lactobacillus porcinae* sp. nov., isolated from traditional Vietnamese Nem chua. *Int.J.Syst.Evol.Microbiol.*(2013);63:1754–1759. doi: 10.1099/ij.s.0.044123-0.
21. Nguyen D. T. L., van Hoorde K., Cnockaert M., de Brandt E., de Bruyne K., Le B. T., Vandamme P. A culture-dependent and-independent approach for the identification of lactic acid bacteria associated with the production of Nem chua, a Vietnamese fermented meat product. *Food Res. Int.* (2013);50:232–240. doi: 10.1016/j.foodres.2012.09.029.
22. J. Schrezenmeir, M. de Vrese, Probiotics, prebiotics, and synbiotics – approaching a definition, *Am. J. Clin. Nutr.* 73 (2) (2001) 361–364.
23. A.L. Nguyen La Anh, Selections of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* strains for probiotics, Project Report “Development of probiotic technology for human use”, Food Industries Research Institute, Hanoi, Vietnam, 2014, pp. 48–76.
24. TRUONG, L. T., MARKHAM, J., BAUMGARTNER, P. A. & NGUYEN, M. 2004. An overview of production of Nem chua, a Vietnamese fermented sausage. *ASEAN Food Journal*, 13, 149-157.
25. TRUONG, T. L. 2006. Characterisation and improvement of safety and production technology of nem chua (Vietnamese fermented sausage). Doctor of Philosophy, University of Western Sydney.
26. Xiong, Y.L. The storage and preservation of meat: I—Thermal technologies. In Lawrie’s Meat Science, 8th ed.; Toldrá, F., Ed.; Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; Woodhead Publishing: Cambridge, UK, 2017; pp. 205–230. ISBN 978-0-08-100694-8.
27. Warren, K.E.; Kastner, C.L. A comparison of dry-aged and vacuum-aged beef strip loins. *J. Muscle Foods* 1992, 3, 151–157. [CrossRef]
28. Campbell, R.E.; Hunt, M.C.; Levis, P.; Chambers, E. Dry-aging effects on palatability of beef longissimus muscle. *J. Food Sci.* 2001, 66, 196–199. [CrossRef]
29. Suleman, R.; Wang, Z.; Aadil, R.M.; Hui, T.; Hopkins, D.L.; Zhang, D. Effect of cooking on the nutritive quality, sensory properties and safety of lamb meat: Current challenges and future prospects. *Meat Sci.* 2020, 167, 108172. [CrossRef]

30. Kathleen A. Savoie, Jennifer Perry, Adherence of Food Blog Salsa Recipes to Home Canning Guidelines, *Food Protection Trends*, Vol 39, No. 5, p. 377–386.
31. Beriain, M.J.; Ibáñez, F.C.; Baleztena, J.; Oria, E. The effect of a modified meat product on nutritional status in institutionalized elderly people. *Nutr. Hosp.* 2011, 26, 907–915. [PubMed].

P15

Natural occurring preservatives in selected fruits and vegetables

Bhujel Kishor Novel, Kružík Vojtěch, Tobolka Adam, Čížková Helena

Department of food preservation, University of Chemistry and Technology Prague,
Technická 3, 166 28 Prague 6 – Dejvice, Czech Republic

Abstract

Preservatives can be natural or synthetic chemical substances that are introduced to the product such as food products, beverages, pharmaceutical drugs, furniture, cosmetics, colours, etc. to forbid microbial spoilage and undesirable changes. Fruits and vegetables are an important source of nutrients and certain types of them could theoretically contain natural preservatives (or their derivatives) which are simultaneously used in food industry as additives (benzoic acid and benzoate, sorbic acid and sorbates, and sulphur dioxide). Based on the unclear and inconsistent literature on natural occurring preservatives, the aim of the study was to determine benzoic acid, sorbic acid and, sulphur dioxide concentration in selected samples (spice, fruits and vegetables). As a part of our investigation, we have analysed 7 samples using HPLC-UV method and Monier and Williams's method.

Keywords: *natural preservatives, sorbic acid, benzoic acid, sulphur dioxide, limits, uses*

Summary of current state of knowledge

A preservative is a substance or a chemical, which may be natural or synthetic and are used to the product such as food products, beverages, pharmaceutical drugs, furniture, cosmetics, colours, etc. to forbid microbial spoilage and undesirable changes.

Benzoic acid [(C₇H₆O₂) E210 (EU No. Regulation on Labelling of Foodstuffs)] is an aromatic carboxylic acid, with a carboxylic group attached to a benzene ring¹. Benzoic acid is an important substructure of various natural products and is commonly present in animals and plants. Benzoic acid is a multifunctional compound that are used as flavoring agents and/or preservatives in food, which may influence taste perception when used as preservative². The antimicrobial activity of benzoic acid and benzoates has been proven effective against a broad range of microorganisms involved in food spoilage and poisoning. They are effective resisting molds and yeasts associating to the genera *Aspergillus*, *Penicillium*, *Eurotium*, *Debaryomyces*, *Saccharomyces*, *Pichia*, *Candida*, *Kloeckera*, *Kluyveromyces*, and *Zygosaccharomyces*³. Benzoic acid occurs naturally in several foods and commodities (Table 1). The concentration of benzoic acid depends on plant species, season, survival and its reproduction, and interaction between plant-plant, plant-animal⁴.

Tab. 1 – Benzoic acid natural content in different plants ⁵.

Name of plants		Benzoic acid [mg/kg](FAO/WHO 2000)
Fruits	Apple, melon, banana, common orange, pear, pineapple, lemon, etc.	< 1
	Naval orange and peach	1-2
	<i>Vaccinium</i> species	≤ 500
	Some plants and some ripe fruits	≤ 1300
Vegetables	Cabbage, potato, carrot, onion, cauliflower, aubergine, radish, lettuce, and garlic	< 1
	Soyabean, spinach, and pumpkin	1-2
Spices	Parsley	< 1
	Black pepper, turmeric, coriander, and laurel	3-5
	Clove, thyme, nutmeg, saliva	15-50
	Cinnamon	336

Sorbic acid [(C₆H₈O₂) E200 (EU No. Regulation on Labelling of Foodstuffs)] monocarboxylic unsaturated fatty acid which is a sublime, colorless solid. Sorbic acid is an organic compound rarely found in nature and is generally recognized as safe, and extensively used in food, pharmaceutical, feed, etc. Sorbic acid and its salts are tasteless and odourless when used at levels below 0.3% ⁶. The excessive use of sorbates as preservatives is based on their capacity to inhibit or slowing growth of various microorganisms, including yeasts, molds, and bacteria.

Sorbic acid was first isolated, as naturally occurring, from the oil of unripened rowanberries (genus *Sorbus*). Kim, Myung-chul, et al. a group of Japanese scientists did a study for the sorbic acid presence in various plants and different parts of plants ⁷ (Table 2).

Tab. 2 –The sorbic acid natural content in various plant and plant parts ⁷

Name of plants	Parts of plant	Sorbic acid[mg/kg]
Green tea	Leaf	8.4
Oolong tea		10.2
Persimmon leaf		8.4
Yam	Root	2.0
Cnidii rhizoma		7.9
Chicory		11.5
Corni fructus	Fruits	3.0
Lemon		64.1
Perilla seed	Seed	1.6
Coffee		8.8

Sulphur dioxides and sulphites (E220 – E228) are most commonly used as preservatives in a wide range of foods. The common sulphite forms in food include sulphur dioxide, sodium and calcium sulphite, sodium and potassium bisulphite, and sodium and potassium metabisulphite. They are used in the food industry as antimicrobials, and bleaching and reducing agents to prevent enzymatic and non-enzymatic browning. Sulphites are often used in dried fruits and fermented beverages as antioxidant to prevent oxidation of polyphenols ⁷. In fruit and vegetable juices up to 50 mg/kg is added to preserve from mold and yeast spoilage and prevent discoloration ⁸. Sulphur dioxides and sulphites are not known to be naturally occurring in raw materials. However, some of the current regulatory method for sulphites, e.g. the optimised Monier–Williams method, produces false-positive results with vegetables from the *Allium* (garlic, onions, etc.) and *Brassica* (cabbage, mustard, etc.) genera (Table 3) due to extraction conditions that are thought to cause endogenous sulphur compounds to release SO₂ ⁹.

Tab. 3 –Sulphur dioxide content in frozen vegetables ⁹

Name of plants	SO ₂ [mg/kg.]
Brassicaceae vegetable	< 10 mg/kg
different onions varieties	9.8 – 11.5

Preservatives level sometimes cause disputes between countries that import and export foods due to the country's regulation standards of additives. Lack of information on the quantities of naturally occurring preservatives makes decisions regarding food standards and food safety difficult. According to the Korea Food Code (MFDS 2016) ¹⁰, if one can prove that a particular preservative is derived from raw materials, the necessary data may be submitted following the regulation and consumer complaints may be filed in case the violation of the standard of food is of natural origin. Therefore, data regarding preservatives should be accumulated to support the application of food standards.

Material and Methodology

- a) Samples were purchased from the local bio markets and stores, to avoid contamination from outside (Cinnamon, Plum, Rowan, Blueberry, Onion, Cabbage, and Rowan). They were gently rinsed with distilled water to remove any remaining dust from the surface and wipe them to remove surface water. Then the edible portions were sliced and place in a homogenizer, and run them for about 15 to 20 seconds at 2500 RPM, until they were homogenized.
- b) HPLC standard protocol for preservative analysis (Sorbic and Benzoic acid).
 - The samples were diluted with distilled water, filtered, and then injected (20 ul) into the HPLC vials.
 - The column (Rezex RFQ-Fast acid H+ 8%; 100 * 7.8 mm, 8 um Phenomenex; Chromservis, CR) temperature was kept at 50 °C.
 - The mobile phase consisted of sulphuric acid (0.05 mol/l) in acetonitrile (10%); the flow rate was 1 ml/min.

- Standard: Potassium sorbate- 0.1398g to 100g and Benzoate- 0.1180g to 100g
- Calibration range: 15, 10, 5, 1 mg/l OR 1.5, 1, 0.5, 0.1 ml in 100 ml volumetric flask.
- The limit for the sum of both acids in the fruit and vegetable samples is 1500 mg/kg.

c) The Monier/Williams method.

- The sample is boiled for 30 minutes to release the SO₂.
- Nitrogen gas is applied to carry SO₂ to a reservoir of hydrogen peroxide where it is oxidized to form sulphuric acid.
- 3 drops of an indicator are added to determine the amount of acid formed by titration against diluted (0.05M/l) NaOH solution.
- And calculated to evaluate the original quantity of SO₂ present.

Result

Table 4: Content of benzoic acid, sorbic acid and, sulphur dioxide in 7 different samples using HPLC and Monier/Williams methods.

Samples	Benzoic acid (mg/kg)	Sorbic acid (mg/kg)	Sulphur dioxide (mg/kg)
Cinnamon	53.1 ± 1.7	<LOD	<LOQ
Plum	<LOD	<LOD	<LOQ
Rowan	<LOD	<LOD	<LOQ
Lemon	<LOD	<LOD	<LOQ
Blueberry	14.2 ± 0.8	<LOD	<LOQ
Onion	10.3 ± 0.4	<LOD	2.7 ± 0.2
Cabbage	<LOD	<LOD	1.9 ± 0.2

Notes:

Benzoic acid: Limit of detection: 0.07mg/kg, Limit of quantification: 0.23 mg/kg

Sorbic acid: Limit of detection: 0.01 mg/kg, Limit of quantification: 0.04

Sulphur Dioxide: Limit of quantification: 0.5 mg/kg

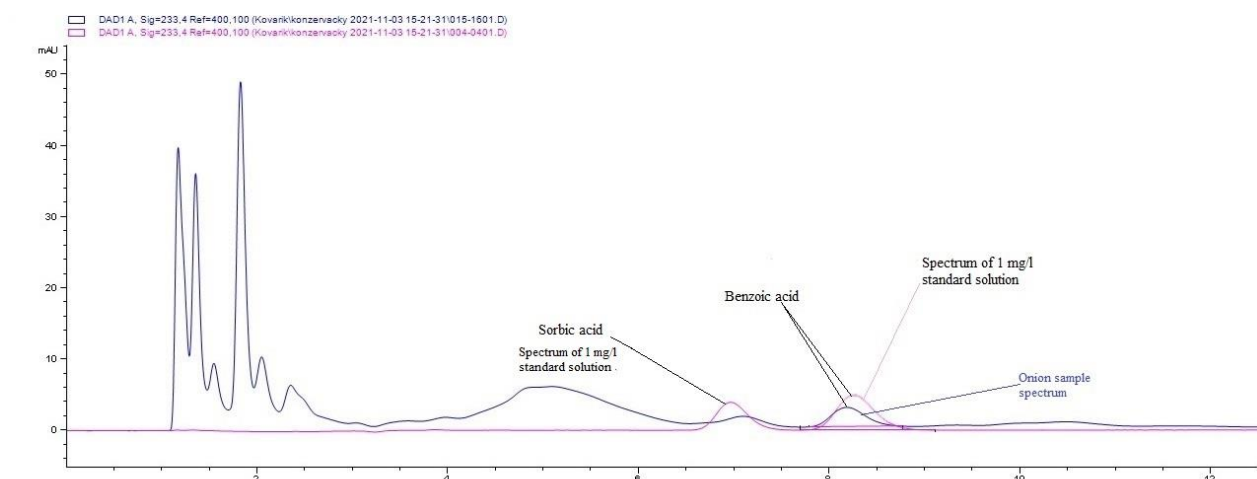


Fig. 1 Chromatogram represents the spectrum of onion sample and Standard sample (1 mg/l)

Out of seven samples analysed for benzoic acid and sorbic acid using HPLC, three samples (cinnamon, blueberry, and onion) contains 53.1, 14.2, and 10.3 mg/kg of benzoic acid respectively. Heimhuber and Herrmann determined the natural presence of benzoic acid in onion and cabbage in a concentration less than 1 mg/kg,¹¹ and cinnamon 336 mg/kg, blueberry up to 500 to 1300 mg/kg in ripe fruit of some *Vaccinium* species⁵.

Moreover, no seven samples analysed for the presence of sorbic acid showed any content of sorbic acid.

In our sulphur dioxide test, two sample contains sulphur dioxide at concentration of 2.7 and 1.9 mg/kg in onion and cabbage respectively. The *Brassica* vegetables (broccoli, Brussels sprouts, cabbage, etc.) contains near the 10 mg/kg SO₂ using the Moniers and Williams method⁹.

Conclusion

Certain spices, fruits and vegetables were proven to contain natural preservatives such as benzoic acid and benzoate (cinnamon, blueberry, and onion), while the other four samples were below the detection limit. Contrary to that, none of the seven samples contained sorbic acid. This is surprising in the case of rowan and further research, for example if there is not a bound or substituted form of sorbic acid, will be needed. Due to lack of information in literature for a better analytical procedure, the degree of false-positive results can be found in some *Allium* and *Brassica* vegetables during sulphur dioxide analysis.

Acknowledgement: This work was supported from the grant of Specific university research – grant No A1_FPBT_2021_004.

Contact address: Ing. Bhujel Novel Kishor, ICT Prague, Institute of Food Preservation, FPBT, Technická 166 28, Prague 6 Dejvice, bhujeln@vscht.cz

Reference

1. Del Olmo A, Calzada J, Nuñez M. Benzoic acid and its derivatives as naturally occurring compounds in foods and as additives: Uses, exposure, and controversy. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2017 Sep 22;57(14):3084-3103. doi: 10.1080/10408398.2015.1087964. PMID: 26587821.
2. Nagayama, T., et al.: Benzoic acid in fruits and fruit products. *Food Hyg. Safe. Sci.* 24, 416–422, (1983).
3. Lee E.J., Yoo K.S., Jifon J., Patil B.S. Characterization of short day onion cultivars of 3 pungency levels with flavor precursor, free amino acid, sulfur, and sugar contents. *Journal of Food Science*; 74(6):475–480, (2009).
4. EFSA (European Food Safety Authority). Opinion of the Scientific Panel on additives and products or substances used in animal feed on the safety and efficacy of VevoVital (benzoic acid) as feed additive for pigs for fattening. *EFSA J.* 457:1–14. (2007).
5. FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Health Organization). (2000). Benzoic acid and sodium benzoate. Concise International Chemical Assessment Document N26. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, pp. 1–48.
6. Lück, E. Sorbic acid as a food preservative. *Intl. Flavors Food Addit.* 7:122–124, 127.(1976)
7. Kim, Myung-chul et al.: Studies of the Natural Occurring Benzoic acid in foods. Part (1) - Naturally occurring benzoic acid and Sorbic acid in several plants used as teas or spices, (1999).
8. Codex-Alimentarius. GSFA Online, Food Additive Group Details, Sulphites'. (2018).
9. Robbins Carlos KS, de Jager LS. Comparison of multiple methods for the determination of sulphite in Allium and Brassica vegetables. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2016 Oct; 33(10):1509-1517. doi: 10.1080/19440049.2016.1229869. Epub 2016 Sep 21. PMID: 27592824; PMCID: PMC5890496.
10. Yun SS, Kim J, Lee SJ, So JS, Lee MY, Lee G, Lim HS, Kim M. Naturally occurring benzoic, sorbic, and propionic acid in vegetables. *Food Addit Contam Part B Surveill.* 2019 Sep;12(3):167-174. doi: 10.1080/19393210.2019.1579760. Epub 2019 Feb 22. PMID: 30793667.
11. Heimhuber, B. and Herrmann, K. (1990). Benzoic, phenylacetic, 3-phenylpropionic and cinnamic acids as well as benzoyl glucose in some fruits and vegetables. *Deut. Lebens. Rundsch.* 86:205–209.

P16

Porovnání zvolených kvalitativních parametrů šťáv z vybraných odrůd rybízu

Comparison of selected quality parameters of juices from selected currant varieties

**Tereza Podskalská, Bhujel Kishor Novel, Martina Hraničková,
Tereza Škorpilová, Filip Beňo, Helena Čížková**

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

Souhrn

Kvalita šťáv z černého či červeného rybízu závisí na mnoha aspektech, jako je správný výběr odrůdy (odolnost vůči chorobám a mikroorganismům, adaptaci vzhledem ke klimatickým podmínkám a na vhodnost pro průmyslové zpracování) a samotná technologie zpracování, kdy každý krok má vliv na chemické složení finálního produktu a tím i na jeho senzorické a nutriční vlastnosti.

Cílem práce bylo porovnat chemické složení 14 laboratorně vyrobených rybízových šťáv (přesněji 10 vzorků černého a 4 vzorky červeného rybízu) na základě vybraných markerů (refrakce, cukry, organické kyseliny, titrační kyselost, formolové číslo, popel, vitamin C, minerální látky a anthokyany). A následně ověřit a porovnat vliv odrůdy na složení rybízové šťávy.

Abstrakt

The quality of black or red currant juices depends on many aspects, such as the correct choice of variety (disease and microorganism resistance, adaptation to climatic conditions and the suitability for industrial processing) and the processing technology itself, where each step affects the chemical composition of the final product and thus its sensory and nutritional properties.

The aim of the work was to compare the chemical composition of 14 laboratory-produced currant juices (particularly 10 samples of black and 4 samples of red currant) based on selected markers (refraction, sugars, organic acids, titratable acidity, formol number, ash, vitamin C, mineral substances and anthocyanins). And subsequently, to verify and compare the effect of variety on the quality composition of currant juice.

Klíčová slova: *rybízové šťávy, kvalitativní parametry, anthokyany*

Úvod

Rybíz, též známý jako meruzalka, náleží do rodu *Ribes* vyšších dvouděložných rostlin, čeledi meruzalkovité, který zahrnuje na 150 druhů a druhových kříženců rybízu a angreštu. Mezi komerčně pěstované druhy se řadí černý rybíz (*Ribes nigrum* L.), červený rybíz (*R. rubrum*) a bílý rybíz (*R. rubrum* L., *R. sativum* Syme a *R. petraeum* Wulf.), jenž

je bílou variací rybízu červeného. Nejběžněji pěstované odrůdy jsou následující: černý rybíz – Roodknop, Öjebyn, Ben Lomond, Ben Alder, Ben Tirran, Ben Nevis, Ben Hope a Titania, červený rybíz – Jonkheer van Tets, Red Dutch, Rondon, Stanza, Red Lake, Rovada, Rolan, Rosetta, Rotet, Heinemann's R. S. a Junifer a bílý rybíz – White Dutch a White Versailles¹⁻³.

Rybíz se primárně pěstuje pro výrobu ovocných šťáv a dalších nealkoholických nápojů (např. ovocné nápoje, ochucené minerální vody, čaje) a též se zpracovává na džemy, pyré, želé, náplně, polevy, zmrzliny, bonbóny, koncentráty či na alkoholické nápoje (např. francouzský cassis), funkční potraviny a do určité míry se konzumuje čerstvý^{2,4,5}.

Výroba šťávy z rybízu zahrnuje několik kroků, jako rozmrazení, drcení, zahřívání na určitou teplotu, enzymatická macerace, lisování, filtrace, čiření, pasterace, plnění do lahví a skladování. Obsah antokyanů obvykle během skladování šťáv významně klesá, zatímco jiné třídy fenolických sloučenin nejsou tolik náchylné ke změnám. Obecně platí, že důvody pro jednotlivé kroky zpracování bobulovin jsou maximalizace výnosu šťávy, inaktivace mikroorganismů, deaktivace enzymů a udržení sensorických vlastností finálního produktu. Použití pektolytických (pektinolytických) enzymů při výrobě šťávy je zcela běžné, jelikož tato ošetření zvyšují výtěžnost šťávy, snižují viskozitu a také významně zvyšují extrakci bioaktivních sloučenin, jako jsou polyfenoly. Běžně používané enzymy obecně obsahují směsi polygalakturonasy, pektin lyasy a pektin methylesterasy, jakož i další enzymy s celulolytickými a hemicelulolytickými účinky. Používají se k rozpadu polymerní struktury, jako jsou pektiny, celulóza a hemicelulóza v dužnině bobulovitého ovoce. Degradace pektinu má též za následek modifikaci fyzikálně-chemických vlastností, jako je obsah celkových rozpustných pevných látek, hodnota pH, zákal, změna aroma a vyšší hořkosti (svíravosti) vlivem významného zvýšení obsahu polyfenolů. Též ostatní výrobní kroky mají vliv na chemické složení a tím i na sensorické vlastnosti konečných produktů. Zejména vlivem ošetření teplem často vede ke změnám aromatického profilu šťáv^{4,6,7}.

Plody černého rybízu jsou ceněny pro své vysoké nutriční vlastnosti, jelikož obsahují velké množství vitaminů (zejména vitaminu C), minerálních látek (draslík, fosfor, mangan, zinek, chrom a bór), stejně jako četně zastoupené antioxidační sloučeniny (flavonoidy, anthokyaniny a další fenolické sloučeniny). Hlavními skupinami primárních metabolitů jsou cukry a organické kyseliny, mezi sekundární metabolity rybízu se řadí fenolické sloučeniny. Obsah těchto látek je ovlivněn typem kultivaru, způsobem pěstování, podmínkami prostředí a dobou sklizně. V extraktu z bobulí černého rybízu byl zjištěn obsah až patnácti anthokyanů, kdy mezi 4 hlavní se řadí: cyanidin-3-O-glukosid, cyanidin-3-O-rutinosid, delphinidin-3-O-glukosid a delphinidin-3-O-rutinosid a u červeného rybízu je nejhojněji zastoupen cyanidin-3-O-glukosid^{2,8,9}.

Mezi základní znaky kvality rybízové šťávy patří typické smyslové vlastnosti a nutriční parametry. Vedle provozních metod jako je stanovení refraktometrické sušiny nebo titrační kyselosti se obvykle pro monitorování těchto znaků a pravosti výrobků používají metody jako je HPLC, GC nebo sensorické metody^{7,8,10}.

Materiál a metodika

Posouzení variability ve složení 14 vzorků laboratorně připravených rybízových šťáv z bobulí (viz Tab. I) na základě měření vybraných markerů:

- refraktometrická sušina (ČSN EN 12143) – automatický refraktometr (Mettler Toledo)
- obsah cukrů (glukosy, fruktosy a sacharosy; ČSN EN 12630) – HPLC/RID, typ kolony: Shodex SUGAR SC1011 (300 mm × 8,0 mm I.D), MF: H₂O přefiltrovaná a odplyněná, 1 ml/min, 80 °C, 20 µl
- obsah organických kyselin (citronová a L-jablečná) – HPLC/DAD, typ kolony: dvojitá kolona Kinetex C18 100 A (250 mm × 4,6 mm), MF: 0,02 M KH₂PO₄ o pH 2,5 (upraveno kyselinou fosforečnou), 0,7 ml/min, 25 °C, 20 µl, dle článků Scherer R. et al.¹¹ a Rajchl A. et al.¹²
- celková kyselina D-isocitronová – enzymový set od firmy Megazyme (K-ISOC 04/20) dle příručky tohoto setu¹³ a článku Wallrauch a Greiner¹⁴
- titrační kyselost (TK, ČSN EN 12147) – automatický titrátor (Mettler Toledo)
- formolové číslo (FČ, ČSN EN 1133) – automatický titrátor (Mettler Toledo)
- vitamin C (askorbová kyselina) – HPLC/DAD, dle článku od autorů Iwase H. a Ono I.¹⁵
- minerální látky (Ca, Mg, K; ČSN EN 1134) – atomová absorpční spektrometrie (AAS)
- popel (ČSN EN 1135) – gravimetrická metoda
- fosfor (ČSN EN 1136) – spektrofotometrická metoda
- anthokyany (cyanidin-3-O-glukosid, cyanidin-3-O-rutinosid, delphinidin-3-O-rutinosid) – HPLC/DAD, dle IFU 71

Celkem bylo analyzováno 14 vzorků rybízových šťáv (přesněji 10 vzorků černého rybízu a 4 vzorky červeného rybízu, viz Tab. I). Vzorky bobulí byly získány samosběrem v roce 2020 a 2021 od českých pěstitelů z celé ČR. Pro laboratorní přípravu rybízových šťáv byl použit přídatek roztoku enzymového preparátu (pektinasy) Rohaptec MC (AB Enzymes GmbH, Německo) a odšťavňovač Sana Supreme 727 (Mipam bio s.r.o., Česká republika). Vzorky bobulí uskladněné v mrazicím zařízení byly před zpracováním rozmrazeny na pokojovou teplotu. Nejprve byl z bobulí rybízu připraven homogenát, po temperaci (50 °C, 30 min.) následoval přídatek pektinasy (Rohaptec MC), druhá temperace (50 °C, 90 min.), odšťavnění (40 otáček/min.) a nakonec zamražení takto laboratorně připravených rybízových šťáv.

Tabulka I Seznam vzorků bobulí rybízu (samosběr)

druh	2020		2021	
	ozn.	odrůda	ozn.	odrůda
černý	1	Öjebyn	8	Red Hube''
	2	Titania	9	Titania ^{oo}
	3	Titania ^{oo}	10	Öjebyn*
	4	Öjebyn*	11	Viola
	5	Red Hube''	12	Titania

červený	6	Rovada	13	Heinmann
	7	neznámá	14	J. W. Tets

°, *, '' - označení odrůd pocházející od stejného pěstitele

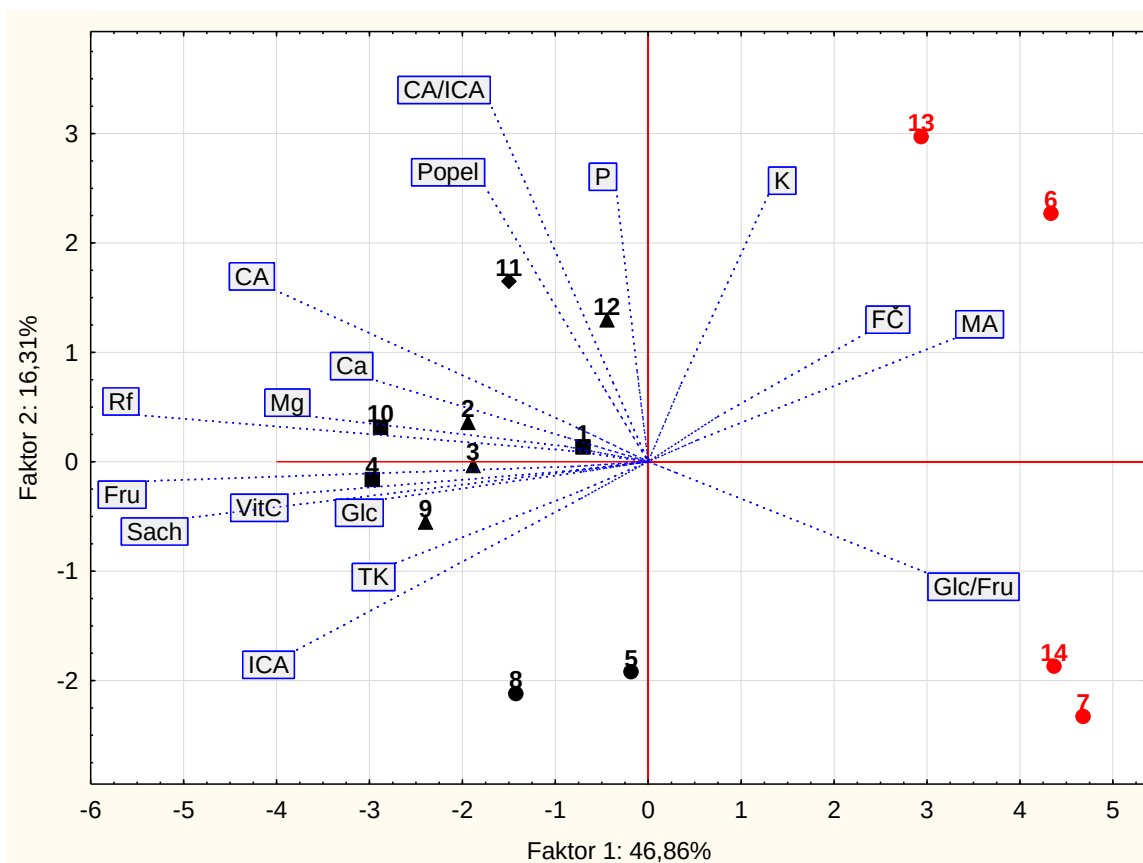
Výsledky a diskuze

U všech rybízových šťáv byly stanoveny výše uvedené vybrané markery. Výsledné hodnoty jsou uvedeny (v g/kg či mg/kg) v Tab. II. Získané výsledky byly statisticky zpracovány prostřednictvím vícerozměrné metody PCA (Analýza hlavních komponent, Obr. 1) s využitím softwaru Statistica 12.0.

Tabulka II Chemické složení 14 rybízových šťáv a porovnání naměřených dat s literárními údaji

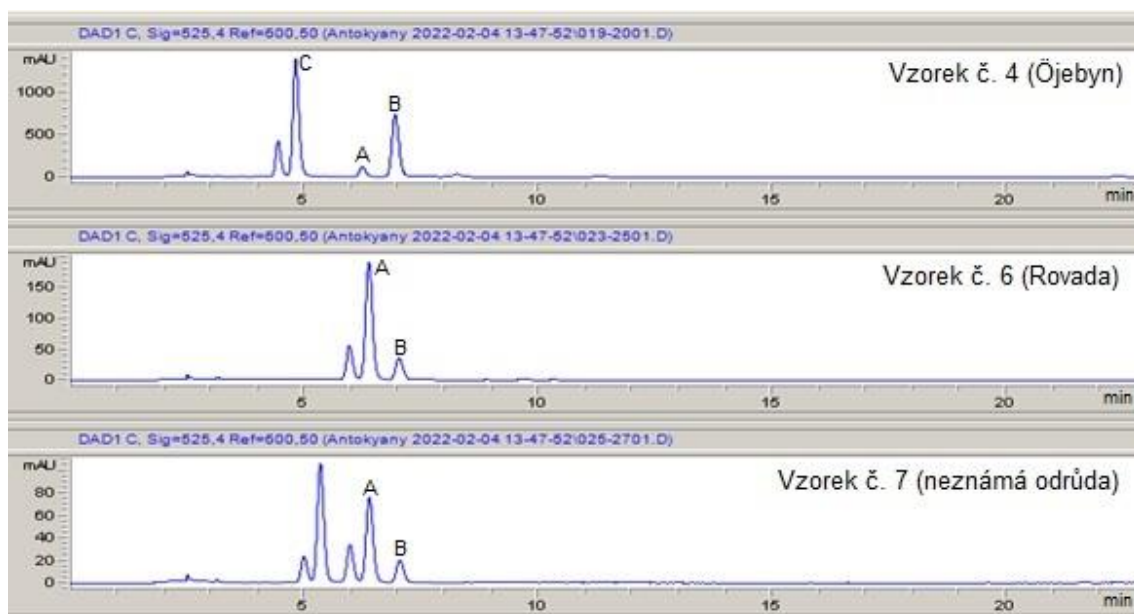
Marker	Černý rybíz CoP ¹⁶	Červený rybíz Souci ¹⁷	Rybíz 2020		Rybíz 2021	
			Černý (n = 5)	Červený (n = 2)	Černý (n = 5)	Červený (n = 2)
Refrakce	10,5 °Brix	-	17,1 ± 1,6	10,9 ± 0,5	15,0 ± 1,3	11,3 ± 1,0
Titrační kyselost	26,7 - 40,1 g/l	26,7 - 40,1 g/l	38,4 ± 4,8	27,0 ± 2,0	35,2 ± 3,6	27,5 ± 1,5
Formolové číslo	7 - 30 ml 0,1 M NaOH	-	11,6 ± 2,1	39,5 ± 9,5	12,6 ± 2,6	26,5 ± 12,5
Popel	5 - 10 g/l	5,1 - 7,1 g/l	5,4 ± 0,5	5,0 ± 1,0	6,0 ± 0,6	4,0 ± 1,0
Fosfor	160 - 360 mg/l	180 - 330 mg/l	260 ± 63	293 ± 124	259 ± 44	236 ± 78
Draslík	2000 - 4100 mg/l	1560 - 3000 mg/l	1396 ± 96	1649 ± 368	1855 ± 444	2761 ± 732
Hořčík	80 - 200 mg/l	80 - 170 mg/l	162 ± 26	104 ± 4	156 ± 20	107 ± 27
Vápník	160 - 500 mg/l	170 - 370 mg/l	406 ± 70	209 ± 13	423 ± 88	258 ± 61
Citrónová kys. (CA)	26 - 42 g/l	16,9 - 23 g/l	29,8 ± 3,1	11,5 ± 6,5	33,4 ± 4,3	23,0 ± 2,0
Jablečná kys.	1 - 4 g/l	2,4 - 6,4 g/l	2,6 ± 0,8	7,5 ± 5,5	3,0 ± 0,6	5,5 ± 3,5
Vitamin C	min. 500 mg/l	260 - 470 mg/l	1779 ± 276	144 ± 18	1767 ± 256	165 ± 44
Sacharosa	0 (5 g/l)	-	1,3 ± 0,5	-	1,3 ± 0,4	-
Glukosa	20 - 50 g/l	7,3 - 29 g/l	35,2 ± 5,0	28,5 ± 0,5	43,6 ± 8,5	26,0 ± 3,0
Fruktosa	25 - 65 g/l	18,7 - 30 g/l	45,6 ± 6,2	34,0 ± 1,0	55,2 ± 7,3	31,0 ± 1,0
D-isocitronová kys. (ICA)	125 - 500 mg/l	-	262 ± 18	156 ± 37	267 ± 36	196 ± 44
Poměr CA/ICA	80 - 200	-	114 ± 12	67 ± 27	129 ± 31	124 ± 38
Poměr Glc/Fru	0,6 - 0,9	-	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1

Z výsledků a zejména z PCA diagramu (Obr. 1) je zřejmý rozdíl mezi černým a červeným rybízem. Šťávy černého rybízu jsou vyjádřeny zápornými hodnotami hlavní komponenty, zatímco červené rybízy vykazují kladné hodnoty. Zároveň není zjevný vliv odrůdy ani roku (odrůdy od stejných pěstitelů *Titania 3, 9; °Öjebyn 4, 10 a ''Red Hube 5, 8). Mírně větší rozdíly ve výsledcích rybízových šťáv z let 2020 a 2021 byly u cukrů a draslíku. Může to být způsobeno vyšší zralostí.



Obrázek 1 Biplot znázorňující hodnoty prvních dvou hlavních komponent PCA a jejich vztah k původním datům: proměnné – 17 testovaných markerů, 14 případů (černý rybíz: odrůdy ■ Öjebyn (1, 4, 10), ▲ Titania (2, 3, 9, 12), ● Red Hube (5, 8), Viola (11); červený rybíz: odrůdy ● Rovada (6), ● neznámá (7), ● Heinmann (13) a ● J. W. Tets (14))

Vzorky šťáv byly podrobeny analýze anthokyanů, kdy byly použity tyto standardy: cyanidin-3-O-glukosid (Cy-3-glp), cyanidin-3-O-rutinosid (Cy-3-rut), delphinidin-3-O-glukosid (Dp-3-rut). U 14 vzorků šťáv byl obsah anthokyanů následující – pro černý rybíz: Cy-3-glp $18,6 \pm 3,3$ mg/100 g (rybízu), Cy-3-rut $117,0 \pm 32,0$ mg/100 g a Dp-3-rut $282,5 \pm 70,0$ mg/100 g a pro červený rybíz: Cy-3-glp $21,5 \pm 11,2$ mg/100 g, Cy-3-rut $10,6 \pm 5,7$ mg/100 g. Z výsledků a záznamů analýzy (viz Obr. 2) anthokyanů vyplývá, že bohatší na obsah je černý rybíz oproti červenému.



Obrázek 2 Záznamy z analýzy anthokyanů (A – Cy-3-glp, B – Cy-3-rut a C – Dp-3-rut) u vzorků č. 4 (černý rybíz, Öjebyn), 6 a 7 (červený rybíz, Rovada a neznámá odrůda)

Závěr

Studie byla zaměřena na ověření variability složení a posouzení vlivu odrůdy rybízu získaných samosběrem v roce 2020 a 2021 na kvalitativní složení rybízových šťáv. Pro komplexní posouzení byla použita statistická metoda – Analýza hlavních komponent (PCA). Výsledky ukazují (a potvrzují s odbornou literaturou) zjevný rozdíl mezi černým a červeným rybízem, zejména ve vyšším obsahu vitamínu C a anthokyanů. Z rozptylového diagramu komponentního skóre vyplývá skutečnost, že není patrný rozdíl mezi odrůdami ani roky.

Literatura

1. Heiberg, N. and F. Maage: Currants and gooseberries, Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition), Academic Press, 1708–1712, ISBN 9780122270550, (2003).
2. Zdunić G. Et al.: Chapter 5 – Black (*Ribes nigrum* L.) and Red Currant (*Ribes rubrum* L.) Cultivars, Nutritional Composition of Fruit Cultivars, 101–126, (2016).
3. Jiří Kaplan et al.: Pokročilé systémy pěstování rybízů a angreštů k produkci stolního ovoce, certifikovaná metodika, Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářství Holovousy s.r.o., 64, (2018).
4. Laaksonen, O. et al.: Impact of storage on sensory quality of blackcurrant juices prepared with or without enzymatic treatment at industrial scale, European Food Research and Technology, 246 (12), 2611–2620, (2020).
5. Bakshi, P. et al.: Chapter 14 – Currants: A future minor fruit, Minor fruits: Nutraceutical importance and cultivation, 1, 257–286, ISBN 9789386110299, (2017).
6. Laaksonen, O. et al.: Chemical-sensory characteristics and consumer responses of blackcurrant juices produced by different industrial processes, Food and bioprocess technology, 7 (10), 2877–2888, (2014).
7. Marsol-Vall, A., Laaksonen, O., & Yang, B.: Effects of processing and storage conditions on volatile composition and odor characteristics of blackcurrant (*Ribes nigrum*) juices, Food chemistry, 293, 151–160, (2019).
8. Masny, A. et al.: Breeding value of selected blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) genotypes for early-age fruit yield and its quality, Euphytica 214, 89, 22 (2018).
9. Slimestad, R., & Solheim, H.: Anthocyanins from black currants (*Ribes nigrum* L.), Journal of agricultural and food chemistry, 50 (11), 3228–3231, (2002).

10. Zheng, J. et al.: Effects of latitude and weather conditions on contents of sugars, fruit acids, and ascorbic acid in black currant (*Ribes nigrum* L.) juice, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (7), 2977–2987, (2009).
11. Scherer, R. et al.: Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices, *Food Chemistry*, 135 (1), 150–154, (2012).
12. Rajchl et al.: Analytical data for plum paste as a tool for evaluation of plum paste authenticity, *Journal of Food and Nutrition Research*, 52 (1), 71–77, (2013).
13. booklet D-isocitric acid (D-isocitrate), assay procedure, Megazyme International Ireland, Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, K-ISOC 04/20, 11, (2020).
14. Wallrauch S. & Greiner G.: Bestimmung der D-Isocitronensäure in Fruchtsäften und alkoholfreien Erfrischungsgetränken, *Flüssiges Obst* 44, 241–245, (1977).
15. Iwase, H., & Ono, I.: Determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in juices by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection using L-cysteine as precolumn reductant, *Journal of Chromatography A*, 654 (2), 215–220, (1993).
16. Association of the Industry of Juices and Nectars from Fruits and Vegetables of the EEC (AIJN): Code of Practice (CoP) for Evaluation of Fruit and Vegetable Juices. A.I.J.N, Belgium, (Reference guidelines, 6.11 Reference Guideline for Blackcurrant Juice/Purée, 5, revize 2019).
17. Souci et al.: Food composition and nutrition tables, 1263, ISBN 3804750729, (2015).

Poděkování

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt A2_FPBT_2021_055.

Kontaktní adresa

Ing. Tereza Podskalská,
 VŠCHT Praha, FPBT,
 Ústav konzervace potravin,
 Technická 3, Praha 6 - Dejvice, 166 28,
 Tel: +420 220 443 064, email: podskalt@vscht.cz

Spotřebitelské vnímání výživové hodnoty tuků a olejů***Consumer Perception of the Nutritional Value of Fats and Oils***

**Eliška Rezková¹, Magdalena Hrubá^{1,2}, Tereza Škorpilová¹,
Dana Gabrovská², Jan Pivoňka¹**

¹ Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,
Technická 5, 166 28 Praha 6 - Dejvice

² Centrum zemědělsko-potravinářského výzkumu a inovací, s.r.o.

SOUHRN

Cílem výzkumu bylo zanalyzovat aktuální stav spotřebitelského vnímání výživové hodnoty vybraných tuků a olejů v kontextu kvality potravin. Výzkum, kterého se zúčastnilo přes 900 respondentů, byl proveden pomocí spotřebitelského průzkumu formou on-line dotazníků skrze platformu Survio a tyto výstupy byly následně statisticky zpracovány pomocí programů Excel a Statistica. Výsledky průzkumu objevily velké rozdíly mezi spotřebitelským vnímáním výživové hodnoty vybraných tuků a olejů a jejich skutečnou výživovou hodnotou. Spotřebitelé vnímali všechny zkoumané oleje (řepkový, slunečnicový, panenský olivový) o 40 % jinak (v závislosti na obsahu nasycených mastných kyselin), než jak by měly být vnímány ve vztahu k reálné výživové hodnotě. Největší rozdíly se objevovaly u vepřového sádla a kokosového oleje, který byl vnímán o 61 % pozitivněji, než jak by tomu mělo být v porovnání s realitou. Podobný rozpor nastal také v případě řepkového oleje, který byl naopak vnímán o 40 % negativněji. Výsledky výzkumu podněcují k diskusi nad informovaností spotřebitelů a laické veřejnosti obecně, přičemž je vhodné hledat původ těchto dezinformací, eliminovat je a podniknout potřebné kroky ke zlepšení situace nejen v zájmu spotřebitelů, ale také výrobců a prodejců potravin, které obsahují dané tuky a oleje.

Klíčová slova: výživová hodnota, tuky, oleje, spotřebitelské vnímání, spotřebitelský průzkum

ABSTRACT

The aim of this research was to analyze the current state of consumer perception in relation with nutritional value of selected fats and oils in the context of food quality. The research, which was attended by over 900 participants, was conducted as an online consumer survey in the form of online questionnaires via the Survio platform. These outputs were then statistically processed using Excel and Statistica software. The results of the survey revealed large differences between the consumer's perception of the nutritional value of selected fats and oils and their actual nutritional value. Consumers perceived all these fats and oils 40 % differently (depending on their saturated fatty acid content) than they should be perceived in relation to real nutritional value. The biggest differences appeared in coconut oil and lard, which were perceived 61 % more positively than they should be compared to reality. A similar discrepancy also occurred in the case of rapeseed oil, which was perceived 40 % more negatively. Results of this research stimulate the discussion about consumer and public information in general, while it is appropriate to look

for the origin of this misinformation, eliminate it and take necessary steps to improve the situation not only in the interests of consumers but also producers and sellers of food containing fats and oils.

Keywords: *nutritional value, fats, oils, consumer perception, consumer research*

ÚVOD

Kvalita potravin je komplexní pojem, který může být z pohledu spotřebitelů definován naprosto odlišným způsobem, než tomu je z technického a výrobního hlediska. Z pohledu spotřebitelů kvalita neznamena jen vnitřní vlastnosti, jako jsou ty senzorické a organoleptické, ale významná role je také přisuzována vnějším faktorům, jako je původ a označení výrobku. V souvislosti s kvalitou potravin se čím dál častěji hovoří o obsahu tuků, jejich složení a rozdílech mezi rostlinnými a živočišnými tuky. Toto téma je také stále častěji skloňováno v médiích a populární literatuře, a stává se tedy diskutovaným laickou veřejností, která se na obsah a označování druhů použitých tuků častěji zaměřuje. Cílem tohoto příspěvku je představit statisticky analyzované výstupy spotřebitelského výzkumu a jejich zařazení do kontextu aktuálních výzkumů a parametrů jednotlivých tuků v porovnání se spotřebitelským vnímáním.

ON-LINE SPOTŘEBITELSKÝ PRŮZKUM

V období od dubna 2021 byl prováděn on-line spotřebitelský průzkum na téma kvality potravin a jejich výživové hodnoty. Průzkumový dotazník byl šířen výhradně on-line cestou pomocí e-mailové komunikace a sociálních sítí. Průzkumu se zúčastnilo celkem 909 respondentů a jeho cílem bylo zjistit vnímání výživové hodnoty vybraných tuků a olejů respondenty a do jaké míry jsou schopni rozpoznat složení mastných kyselin. V **Tabulce 1** níže jsou uvedeny výstupy z několika úvodních otázek, na základě nichž byla sestavena základní charakteristika vzorku respondentů. Další z otázek se pak zaměřovala na preferované parametry spotřebitelů při nákupu potravin – resp. zda skutečně preferují stejné parametry, které uvádějí jako důležité kvalitativní znaky pro posouzení potravin.

Tabulka 9 Základní charakteristiky vzorku respondentů spotřebitelského průzkumu

Základní charakteristiky vzorku (n = 909)		
Kritérium	Počet	[%]
<i>Pohlaví</i>		
Žena	602	66,2
Muž	302	33,2
Nechci uvádět	5	0,6
<i>Věk</i>		
do 18	15	1,7
19-24	671	73,8
25-40	158	17,4
41-56	36	4,0
57-66	15	1,7

67-75	13	1,4
76+	1	0,1
<i>Povolání</i>		
Běžný spotřebitel	187	20,6
Pracovník v oboru potravinářství	17	1,9
Student školy jiného než potravinářského zaměření	506	55,7
Student školy potravinářského zaměření	199	21,9
<i>Nejvyšší dosažené vzdělání</i>		
Základní škola	28	3,1
Střední odborné učiliště (zakončeno výučním listem)	9	1,0
Střední škola (zakončena maturitní zkouškou)	520	57,2
Vyšší odborná škola (zakončena absolutoriem)	13	1,4
Vysoká škola (zakončena diplomem)	339	37,3
<i>Místo bydliště</i>		
do 1000 obyvatel	117	12,9
s 1000 - 5000 obyvateli	99	10,9
s 5000 - 10 000 obyvateli	72	7,9
s 10 000 - 100 000 obyvateli	160	17,6
nad 100 000 obyvatel	461	50,7
<i>Nejčastější místo nákupu (obec)</i>		
do 1000 obyvatel	14	1,5
s 1000 - 5000 obyvateli	49	5,4
s 5000 - 10 000 obyvateli	91	10,0
s 10 000 - 100 000 obyvateli	212	23,3
nad 100 000 obyvatel	543	59,7
<i>Nejčastější místo nákupu (obchod)</i>		
Obchody střední velikosti (Lidl, Penny, Billa, Tesco Express apod.)	606	66,7
Velké supermarkety (Globus, Tesco Extra apod.)	175	19,3
Online nákup potravin skrze supermarkety (Rohlík, Košík apod.)	40	4,4
Menší prodejny smíšeného zboží a večerky (Coop Jednota, Žabka apod.)	34	3,7
Obchody lokálních prodejců (zelinářství, uzenářství, pekařství...)	21	2,3
Kamenné obchody s biopotravinami (Country Life, Delmart apod.)	15	1,7
Velkoobchodní prodej (Makro apod.)	8	0,9
Online nákup biopotravin (Fresh bedýnky, Zelená země apod.)	5	0,6
Farmářské trhy (pokud je to možné)	5	0,6

INFORMOVANOST SPOTŘEBITELŮ O VÝŽIVOVÉ HODNOTĚ TUKŮ A OLEJŮ

V rámci dotazníku byla mimo jiné položena otázka ohledně informovanosti respondentů v oblasti výživové hodnoty tuků a olejů. Do této otázky byly vybrány dva zástupci živočišných tuků (máslo, vepřové sádlo) a pět zástupců rostlinných olejů (slunečnicový olej, palmový olej, řepkový olej, olivový panenský olej, kokosový olej).

Rostlinné oleje jsou nejčastěji používány do výrobků určených pro veganské potraviny, což je důležitým faktorem informovanosti zejména u části respondentů, kteří se tímto způsobem stravují (180 respondentů uvedlo, že se stravuje jiným než běžným způsobem). Jako parametr výživové hodnoty byl zvolen obsah nasycených mastných kyselin (SAFA) a to především proto, že nasycené mastné kyseliny jsou často uváděny jako riziková součást stravy a je doporučováno jejich podíl snižovat.

Respondenti měli vybrané tuky a oleje seřadit sestupně podle obsahu nasycených mastných kyselin v rámci skupiny. Cílem otázky bylo zjistit, jestli respondenti vnímají rozdíly ve výživové hodnotě mezi jednotlivými tuky a oleji v rámci skupiny. Otázka zněla: „Pokuste se seřadit následující tuky podle jejich obsahu nasycených mastných kyselin od nejvyššího obsahu po nejnižší (tzn. sestupně). Nasycené mastné kyseliny mají negativní vliv na kardiovaskulární zdraví člověka (způsobují ucpání cév apod.).“.

METODIKA STATISTICKÉHO VYHODNOCENÍ

Z výsledků průzkumu bylo vytvořeno pořadí jednotlivých tuků a olejů a jejich srovnání se správným pořadím (viz. **Tabulka 2**). U každé položky byl stanoven maximální posun o počet správných pozic (resp. max. odchylka od správné pozice). Následně byla vypočtena procentuální hodnota špatného zařazení oleje a tuků v rámci skupiny (100 % absolutně špatné vnímání položky v rámci skupiny). Procentuální hodnoty byly pak statisticky porovnány pomocí MS Excel a programu Statistica.

Tabulka 10 Vybraná skupina olejů a tuků a jejich zařazení v otázce a vyhodnocení

Oleje a tuky pořadí v otázce	Pořadí v otázce	Správné pořadí	Maximální posun o počet pozic
Slunečnicový olej	1	6	5
Máslo	2	2	5
Palmový olej (neztužený tuk)	3	3	4
Řepkový olej	4	7	6
Olivový olej panenský	5	5	4
Kokosový olej	6	1	6
Vepřové sádlo	7	4	3
<i>1. = nejvyšší obsah nasycených mastných kyselin</i>			
<i>7. = nejnižší obsah nasycených mastných kyselin</i>			

VÝSLEDKY VNÍMÁNÍ VÝŽIVOVÉ HODNOTY TUKŮ A OLEJŮ

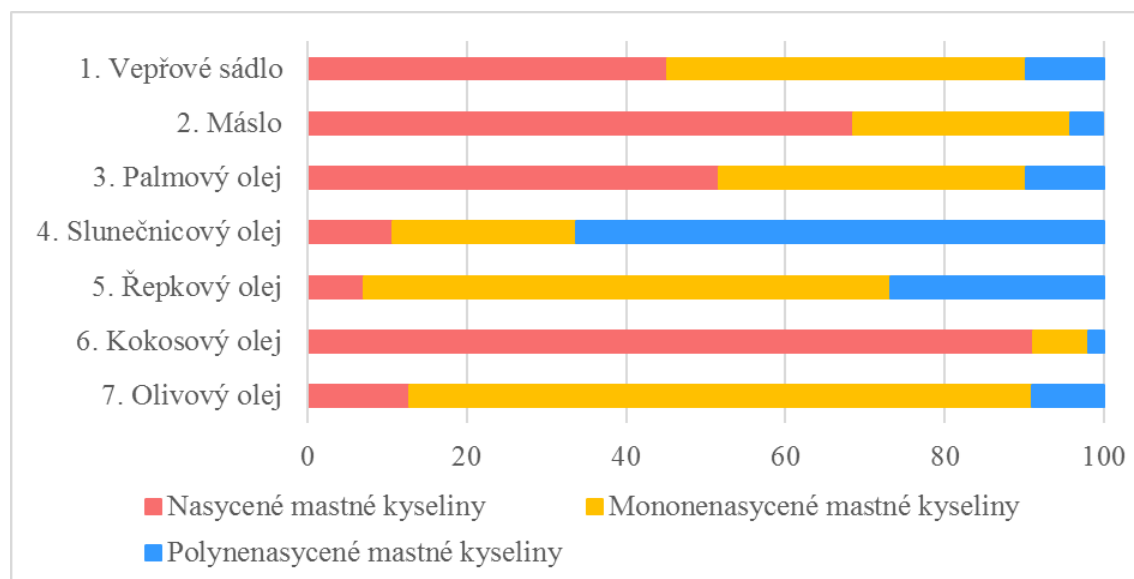
Níže uvedená **Tabulka 3** shrnuje statisticky zpracované výsledky on-line průzkumu vnímání tuků, z nichž vyplývá, že v rámci skupiny vybraných tuků a olejů nebyl respondenty vnímán statisticky významným rozdíl mezi slunečnicovým olejem, řepkovým olejem a olivovým panenským olejem. Ze statistického srovnání dále vyplývá, že všechny zmíněné oleje byly vnímány téměř o 40 % jinak, než je tomu v porovnání s reálnými parametry.

Na **Obrázku 1** můžeme vidět srovnání pořadí, která by jednotlivým tukům a olejům respondenti udělili (jedná se o průměrné hodnoty). Nejvýraznější posun v porovnání s realitou byl zaznamenán u vepřového sádla a kokosového oleje, u kterých je možné konstatovat (vzhledem k jejich umístění na krajních pozicích ve skupině), že kokosový olej je vnímán o 61 % pozitivněji, než jaká je skutečnost. Stejně tak je možné konstatovat, že řepkový olej je vnímán o 40 % negativněji oproti skutečnosti.

Tabulka 3 Statistické hodnocení výsledků vnímání tuků a olejů respondenty

Druh tuku a oleje	Počet vzorků	$\bar{x}$	SD	ANOVA
Slunečnicový olej ^a	n = 909	38,6	28,9	$F = 398,434$ $P = 0,000$ $F_{crit} = 2,100$
Máslo ^b		24,0	29,0	
Palmový olej (neztužený tuk) ^c		29,1	25,4	
Řepkový olej ^a		40,6	26,3	
Olivový olej panenský ^a		37,7	22,4	
Kokosový olej ^d		61,1	33,3	
Vepřové sádlo ^e		77,9	32,7	

a–e Mezi výsledky označenými stejným písmenem ve stejném sloupci není významný statistický rozdíl ($p > 0,01$)



Obrázek 4 Vnímání tuků a olejů respondenty; 1. = nejvyšší obsah nasycených mastných kyselin a 7. = nejnižší obsah nasycených mastných kyselin

Dále bylo provedeno srovnání pořadí stejných druhů tuků a olejů v rámci hodnocení různými skupinami respondentů – tedy těmi, kteří se hlásí k běžné (smíšené) stravě a těmi, kteří se stravují jiným, alternativním způsobem. Z porovnání vyplývá, že tuky a oleje v rámci zvolené skupiny

vnímali všichni respondenti obdobně, tedy, že mezi skupinami není statisticky významný rozdíl (viz. **Tabulka 4**).

Tabulka 4 Porovnání vnímání druhů tuku nebo oleje respondenty stravujícími se běžně nebo alternativně

Druh tuku a oleje	počet vzorků	$\bar{x}$	SD	ANOVA
Slunečnicový olej běžné stravování ^a	n _{BS} = 729	38,8	28,6	$F = 0,108$
Slunečnicový olej alternativní stravování ^a	n _{ALS} = 180	38,0	30,3	$P = 0,742$
				$F_{crit} = 3,852$

Máslo běžné stravování ^a	n _{BS} = 729	24,7	29,6	$F = 1,813$
Máslo alternativní stravování ^a	n _{ALS} = 180	21,4	26,2	$P = 0,178$
				$F_{crit} = 3,852$

Palmový olej (neztužený tuk) běžné stravování ^a	n _{BS} = 729	29,6	25,6	$F = 1,373$
Palmový olej (neztužený tuk) alternativní stravování ^a	n _{ALS} = 180	27,1	24,6	$P = 0,242$
				$F_{crit} = 3,852$

Řepkový olej běžné stravování ^a	n _{BS} = 729	41,3	26,4	$F = 2,584$
Řepkový olej alternativní stravování ^a	n _{ALS} = 180	37,8	25,5	$P = 0,108$
				$F_{crit} = 3,852$

Olivový olej panenský běžné stravování ^a	n _{BS} = 729	37,9	22,3	$F = 0,340$
Olivový olej panenský alternativní stravování ^a	n _{ALS} = 180	36,8	23,0	$P = 0,560$
				$F_{crit} = 3,852$

Kokosový olej běžné stravování ^a	n _{BS} = 729	61,8	33,0	$F = 1,965$
---	-----------------------	------	------	-------------

Kokosový olej alternativní stravování ^a	n _{ALS} = 180	58,0	34,3	P = 0,161
				F_{crit} = 3,852

Vepřové sádlo běžné stravování ^a	n _{BS} = 729	77,5	32,6	F = 0,313
Vepřové sádlo alternativní stravování ^a	n _{ALS} = 180	79,1	33,1	P = 0,576
				F_{crit} = 3,852

a–e Mezi výsledky označenými stejným písmenem ve stejném sloupci není významný statistický rozdíl (p> 0,01)

ZÁVĚR

Výsledky provedeného spotřebitelského průzkumu byly statisticky vyhodnoceny. Statistická analýza prokázala propastné rozdíly mezi reálnými výživovými kvalitami některých hodnocených tuků a olejů a jejich spotřebitelským vnímáním. Spotřebitelé měli na základě domnělého obsahu nasycených mastných kyselin ve vybraných tukích a olejích tyto komodity seřadit dle jejich množství od nejvyššího obsahu nasycených mastných kyselin po nejnižší. Z analyzovaných dat vyplynulo:

- Největší rozdíly mezi spotřebitelským vnímáním a realitou se projevily u kokosového oleje (vnímán nejpozitivněji) a vepřového sádla (vnímán nejvíce negativně), které obsadily krajní pozice vyhodnocení, přičemž kokosový olej byl vnímán o 61 % pozitivněji, než by tomu mělo být v porovnání s jeho reálnou výživovou hodnotou;
- Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi spotřebitelským vnímáním slunečnicového, řepkového a olivového panenského oleje;
- Spotřebitelé vnímali slunečnicový, řepkový a panenský olivový olej téměř o 40 % jinak, než by tomu mělo být na základě reálných výživových hodnot;
- Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl ve vnímání výživové hodnoty vybraných olejů a tuků mezi skupinami respondentů na základě jejich způsobu stravování (běžná – smíšená strava, vegetariáni, vegani a další).

Tato zjištění jsou klíčová pro další výzkumy, jejichž zaměření by mělo být komplexní (tedy napříč všemi skupinami spotřebitelů), stejně tak jako osvěta, která je nejen v zájmu konzumentů, ale také výrobců potravin na místě.

Problematika obsahu a složení tuků i olejů je klíčová pro boj s civilizačními chorobami, jako je diabetes, obezita nebo kardiovaskulární onemocnění. Spotřebitelský průzkum prokázal nedostatečnou informovanost veřejnosti a její zkreslené vnímání těchto složek potravin.

Poděkování:

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt A1_FPBT_2021_004.

ZDROJE:

Bakaloudi, D. R.; Halloran, A.; Rippin, H. L.; et al. Intake and adequacy of the vegan diet. A systematic review of the evidence. *Clin. Nutr.* **2021**, 5 (40), 3503–3521.

Jaeger, S. R.; et al. Perceived situational appropriateness for foods and beverages: consumer segmentation and relationship with stated liking. *Food Quality and Preference* **2019**, 78,

Magnier, L.; et al. Judging a product by its cover: Packaging sustainability and perceptions of quality in food products. *Food Quality and Preference* **2016**, 53, 132–142.

Mascarello G, Pinto A, Parise N, Crovato S, Ravarotto L. The perception of food quality. Profiling Italian consumers. *Appetite*. 2015 Jun;89:175-82. doi: 10.1016/j.appet.2015.02.014. Epub 2015 Feb 11. PMID: 25681654.

Migliore, G.; et al. Opening the black box of food quality in the short supply chain: Effects of conventions of quality on consumer choice. *Food Quality and Preference* **2015**, 39, 141–146.

Mühlenfeld, H. U.; et al. Differences between 'talking about' and 'admitting' sensitive behaviour in anonymous and non-anonymous web-based interviews. *Computers in Human Behavior* **2005**, 21 (6), 993–1003.

Nettleton, J. A.; et al. Saturated Fat Consumption and Risk of Coronary Heart Disease and Ischemic Stroke: A Science Update. *Ann. Nutr. Metab.* **2017**, 70 (1), 26–33.

Van Ruth, S.; et al. Prediction of the identity of fats and oils by their fatty acid, triacylglycerol and volatile compositions using PLS-DA. *Food Chem.* **2010**, 118 (4), 948–955.

P18

**Vliv obsahu cukru na kinetiku degradace anthokyanů při
sváření jahodových pomazánek**

***Influence of sugar content on the kinetics of anthocyanin
degradation during preparation of strawberry spreads***

Ladislava Rýdlová, Eliška Makrlíková, Tereza Škorpilová, Aleš Rajchl

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

Souhrn

Prevalence obezity a diabetu za poslední desetiletí výrazně vzrostla a potravinářský průmysl byl konfrontován s novou výzvou, vývojem produktů s nízkou energetickou hodnotou, přijatelnými senzorickými vlastnostmi, cenami za použití konvenčního zpracovatelského zařízení a v souladu s legislativou. Jahody jsou komerčně důležitou komoditou potravin, celosvětově konzumovanou čerstvou nebo zpracovanou a jsou považovány za funkční potravinu. Fenolovými sloučeninami jahod jsou zejména anthokyaniny, způsobující jejich atraktivní červenou barvu, která je důležitou senzorickou charakteristikou jahod i jahodových pomazánek. Cílem této práce bylo posoudit vliv obsahu cukru na stabilitu anthokyanů při přípravě jahodových pomazánek, kdy obsah anthokyanů byl stanoven metodou HPLC/DAD na reverzní fázi s gradientovou elucí a jejich obsah byl vyjádřen jako obsah nejzastoupenějšího anthokyanu v jahodách – pelargonidin-3-glukosidu.

Summary

The prevalence of obesity and diabetes has increased significantly over the last decade and the food industry has been confronted with a new challenge, the development of low energy products with acceptable sensory properties and prices using conventional processing equipment and in accordance with legislation. Strawberries are a commercially important food commodity, consumed fresh or processed worldwide and are considered a functional food. The phenolic compounds of strawberries are mainly anthocyanins, causing their attractive red color, which is an important sensory characteristic of strawberries and strawberry spreads. The aim of this work was to assess the effect of sugar content on the stability of anthocyanins in the preparation of strawberry spread, when the content on anthocyanins was determined by HPLC/DAD method on reverse phase with gradient elution and their content was expressed as the content of the most abundant anthocyanin in strawberries – pelargonidine-3-glucoside.

Klíčová slova: anthokyaniny, kinetika degradace, HPLC/DAD, jahody, food reformulation

Úvod do problematiky

Snížení příjmu jednoduchých cukrů se doporučuje pro léčbu diabetu, léčbu a prevenci obezity, prevenci zubního kazu a z mnoha dalších důvodů [1]. Produkty se sníženým obsahem cukru (sníženou energetickou hodnotou) byly původně vyvinuty pro diabetiky a osoby se specifickými zdravotními problémy a byly poměrně drahé [2]. Prevalence obezity za poslední desetiletí výrazně vzrostla a poptávka spotřebitelů po těchto výrobcích se výrazně zvýšila pro zmírnění zdravotních problémů, snížení nebo stabilizování tělesné hmotnosti a v rámci zdravější stravy. Potravinářský průmysl tak byl konfrontován s novou výzvou; to je vývoj produktů s nízkou energetickou hodnotou, přijatelnými senzorickými vlastnostmi a konkurenceschopnými cenami za použití konvenčního zpracovatelského zařízení a v souladu s platnými právními předpisy [1-3].

Dietní směrnice po celém světě doporučují zvýšenou konzumaci ovoce a zeleniny jako dobrých zdrojů vlákniny, esenciálních živin a prospěšných fytochemikálií pro zlepšení celkového zdraví, snížení rizika chronických onemocnění a nižšího výskytu několika degenerativních patologií, včetně obezity, kardiovaskulárních a neurologických onemocnění a rakoviny [4].

Jahody (*Fragaria x ananassa* Duch.) jsou komerčně důležitou potravinovou komoditou, celosvětově konzumovanou čerstvou nebo zpracovanou a jsou považovány za funkční potravinu s antioxidačními, protizánětlivými, antihyperlipidemickými, antihypertenzními a antiproliferativními účinky [4]. Jahody jsou dobrým zdrojem některých vitamínů a je známo, že koncentrace mikronutrientů a fenolových sloučenin v jahodách je ovlivňována mnoha předsklizňovými podmínkami, jako je genotyp a zralost při sklizni a posklizňovými faktory (doba skladování a teplota při skladování a zpracování [5, 6]. Kromě toho jsou fenolové sloučeniny jahod známé pro jejich antioxidační a protizánětlivé účinky, antialergické a antihypertenzní vlastnosti, jakož i schopnost inhibovat účinky některých fyziologických enzymů a receptorů a prevenci nemocí spojených s oxidačním stresem [7]. Hlavní třídou polyfenolů jahod jsou flavonoidy, zejména anthokyaniny [6]. Obsah anthokyaninů se zvyšuje se zralostí ovoce, od 2 µg/g v malých zelených jahodách do 389 µg/g ve zralých jahodách [8]. Ve studii da Silva et al. je uváděn celkový obsah anthokyaninů v 5 různých kultivarech jahod v rozmezí mezi 200 a 600 mg/kg [9]. Pigmenty s nejvyšším obsahem jsou v jahodách pelargonidin-3-glukosid a cyanidin-3-glukosid [10]. Jahodové džemy jsou vysoce ceněny pro svou ovocnou chuť a vůni. Kultivar, stupeň zralosti, posklizňové zacházení, kultivační praxe a zpracování jsou hlavními faktory ovlivňujícími atraktivní červenou barvu jahod a tím i jahodových džemů, která je jejich důležitou charakteristikou, kromě typické sladko-kyselé jahodové chuti a vyhovující konzistence. Zlepšení stability anthokyaninů v jahodách je důležité při výrobě džemu, v potravinářském průmyslu obecně, a bylo skutečně mnoho studií o barevné stabilitě jahodového džemu, přičemž zpracování jahod na džem vede ke ztrátě až 70 % původní hodnoty obsahu anthokyaninů [3, 10, 11].

Anthokyaniny jsou polyfenolové, ve vodě rozpustné, nejdůležitější pigmenty zodpovědné za oranžovou, růžovou, červenou, fialovou a modrou barvu u některých rostlin a jejich plodů, přítomné ve většině ovoce a zeleniny [12, 13]. Vědecké studie, jako ukazují, že anthokyaniny a anthokyanidiny mají antioxidační, antimikrobiální, antioxidační,

protizánětlivé a chemopreventivní účinky a hrají roli v prevenci nervových a kardiovaskulárních onemocnění, rakoviny, *diabetu mellitus* 2. typu a šedého zákalu.

Základem anthokyanů je aglykon anthokyanidin, jehož glykosidové formy (vázané na cukernou skupinu) jsou stabilnějšími strukturami známými jako anthokyany [10, 12, 14-16]. Molekulou cukru může být arabinóza, galaktóza, glukóza, rhamnóza nebo xylóza [13].

Vzhledem k vysoké reaktivitě anthokyany snadno degradují a tvoří bezbarvé nebo nežádoucí sloučeniny hnědé barvy v ovocných produktech během zpracování a skladování, přičemž snížení antioxidační aktivity během zpracování a skladování může snížit zdravotní příznivé účinky takových potravinářských výrobků. Degradace anthokyanů je přičítána mnoha faktorům, jako je pH, světlo, fenolové sloučeniny, siřičitany, struktura a koncentrace anthokyanů, kovy, cukry a degradační produkty cukrů, neenzymové a enzymové hnědnutí, kyslík, degradace kyseliny askorbové, polymerizace anthokyanů s dalšími fenolovými sloučeninami, skladovací teplota a kultivar a vyzrálост ovoce [10, 17, 18]. Z tohoto důvodu bylo provedeno mnoho studií zabývajících se stabilitou anthokyanů, které uvádí možnosti kterými je stabilita anthokyanů skutečně zvýšena: o-glykosidová vazba, přítomnost acylových skupin na molekule cukru, přítomnost iontů kovů, kopigmentace a enkapsulace. Stabilita anthokyanů velmi závisí na pH, přičemž stabilnější jsou při nízkých hodnotách pH [16]. Stabilita anthokyanů a všech pigmentů v potravinách klesá při skladování s rostoucí teplotou [19]. Ve studii Giusti et al. je uvedeno, že zvýšená koncentrace anthokyanů podporuje jejich stabilitu [20]. Kyslík zesiluje vliv jiných degradačních procesů anthokyanů. Odstranění kyslíku chrání proti tepelné degradaci. Světlo ovlivňuje anthokyany dvěma různými způsoby. Je zásadní pro jejich biosyntézu, ale také urychluje jejich degradaci [16]. Inaktivace enzymů zvyšuje stabilitu anthokyanů. Nejčastějšími enzymy degradujícími anthokyany jsou glykosidázy, které štěpí kovalentní vazbu mezi glykosidickým zbytkem a aglykonem anthokyanového pigmentu, což má za následek degradaci vysoce nestabilního anthokyanidinu. Dalšími běžnými enzymy degradujícími anthokyany jsou peroxidázy a fenolázy, jako fenoloxidázy a polyfenoloxidázy [21]. Bylo pozorováno, že pektin a cukry stabilizují anthokyany absorbcí flavyliového kationtu. Cukry snižují aktivitu vody a chrání flavyliový kationt před nukleofilním atakem v poloze C-2 vodou, což vede k bezbarvé karbinolové bázi. Nicméně v nízkých koncentracích produkty degradace cukrů (furfuraly z reakcí jako je Maillardova reakce) zvyšují rychlost degradace anthokyanů [13]. Za účelem, abychom předpovídali ztrátu barvy a minimalizovali nežádoucí změny barvy jsou velmi důležité znalosti degradační kinetiky, včetně reakčního řádu, rychlosti reakce a aktivační energie [22]. V předchozích studiích je uváděno, že tepelná degradace anthokyanů je reakcí kinetiky prvního řádu [22-24]. Stanovení doby skladovatelnosti (údržnosti) je u potravin velmi důležité a přístup k jejímu stanovení závisí na typu potraviny. Zrychlené skladovací testy jsou prováděny tak, že konkrétní potravina je skladována po určitou dobu ve vyšších teplotách nebo vystavena vyšším koncentracím kyslíku atd. než běžně. Klíčovým bodem stanovení doby skladovatelnosti je odhadnout limity vybraných markerů, přičemž senzorické markery jsou pro predikci trvanlivosti nejdůležitějšími parametry [25].

Experimentální část

Byly navrženy receptury jahodových pomazánek s obsahem karagenanu 2 % a celkovým obsahem kyseliny citrónové 0,5 %. Receptury v této práci se mezi sebou lišily obsahem cukru – 10, 20, 30, 40 a 50 %. Přesná množství použitých surovin a vycházela ze stanovených hodnot titrační kyselosti a refraktometrické sušiny jahod.

Sváření pomazánek

Hlavní surovinou byly zmrazené jahody, které byly postupně rozmrazovány a mixovány pro přípravu jahodových pomazánek. Rozmixované jahody se smíchaly s vypočteným množstvím cukru, karagenanu a kyseliny citrónové dle receptur do nádoby mixeru, který umožňuje míchání a zahřívání směsi v uzavřené nádobě.

Odběr vzorků

Po rozpuštění cukru a rozmíchání karagenanu bylo ze směsi odebráno přibližně 10 g a zahájeno svařování. Po dosažení teploty 90 °C byla spuštěna časomíra a po 5 minutách odebrán další podíl 10 g. Tyto odběry se po 5 minutách opakovaly až do 25 minut, poté byl interval odbírání prodloužen na 10 minut. Po 65 minutách bylo sváření ukončeno. Všechny odebrané vzorky ze směsi byly ihned po odběru umístěny do lednice. Poté již následovala extrakce a analýza anthokyanů.

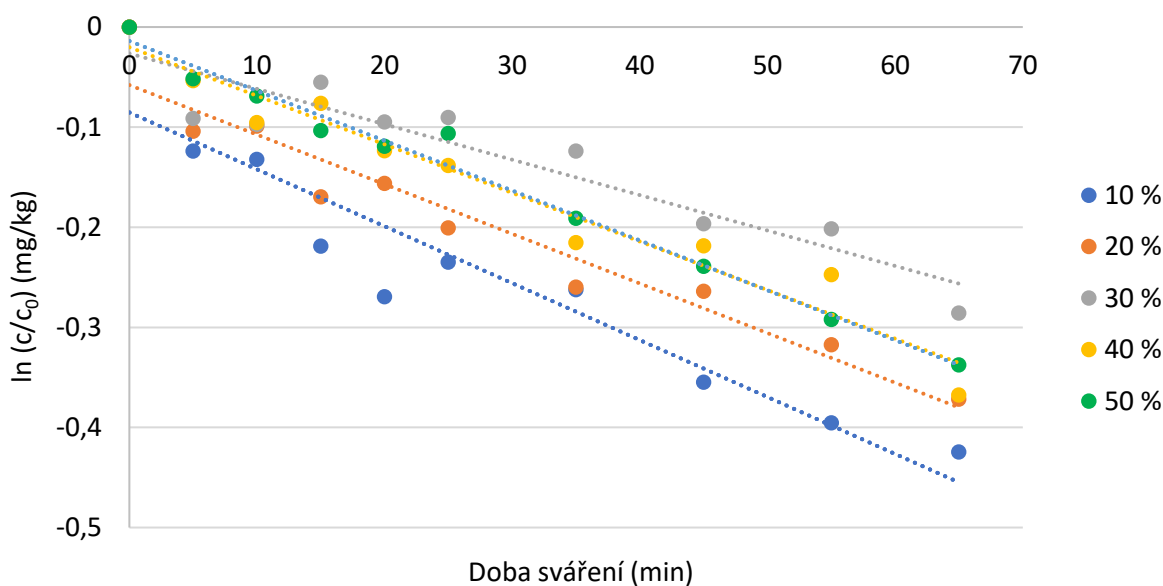
Stanovení anthokyanů

Anthokyaniny byly stanoveny pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) na reverzní fázi s gradientovou elucí. K detekci byl použit detektor s diodovým polem (DAD). Podmínky měření byly nastaveny podle IFU metody číslo 71 „Anthocyanins by HPLC“ (IFU, 1998). Jako standard byl použit pelargonidin-3-glukosid a obsah anthokyanů v jahodových pomazánkách byl vyjádřen jako koncentrace pelargonidin-3-glukosidu (kolona: Purospher STAR RP-8e (5 µm), Hibar RT 250-4; pelargonidin-3-glukosid (>95 %, PhytoLab, Německo).

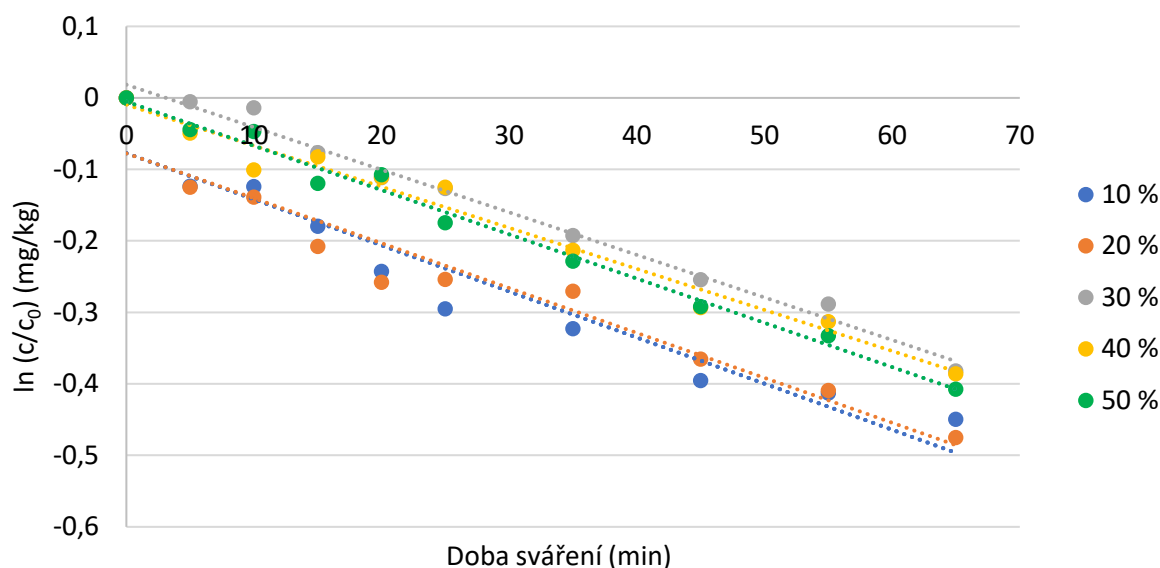
Anthokyaniny musely být před samotným měřením HPLC z jahod vyextrahovány. Jako extrakční činidlo byla zvolena destilovaná voda, přičemž každý vzorek jahod či džemu byl extrahován celkem třikrát. Do 50 ml centrifugační zkumavky bylo naváženo 10 g vzorku s přesností na 3 desetinná místa. Dále ke vzorku bylo přidáno 25 ml destilované vody a směs byla důkladně ručně protřepána po dobu zhruba 2 minut. Poté byla odstředěna 10 minut při 4960 g. Extrakt byl přelit do 100 ml odměrné baňky. Ke zbylému sedimentu v centrifugační zkumavce bylo opět přidáno 25 ml destilované vody, směs byla protřepána a odstředěna jako v předešlém kroku a extrakt byl přidán k extraktu z prvního kroku. Takto se extrakce u každého vzorku opakovala celkem třikrát. Po všech třech krocích extrakce byly odměrné baňky doplněny po rysku a extrakty v nich zfiltrány přes PTFE filtry do tmavých vialek.

Výsledky a diskuse

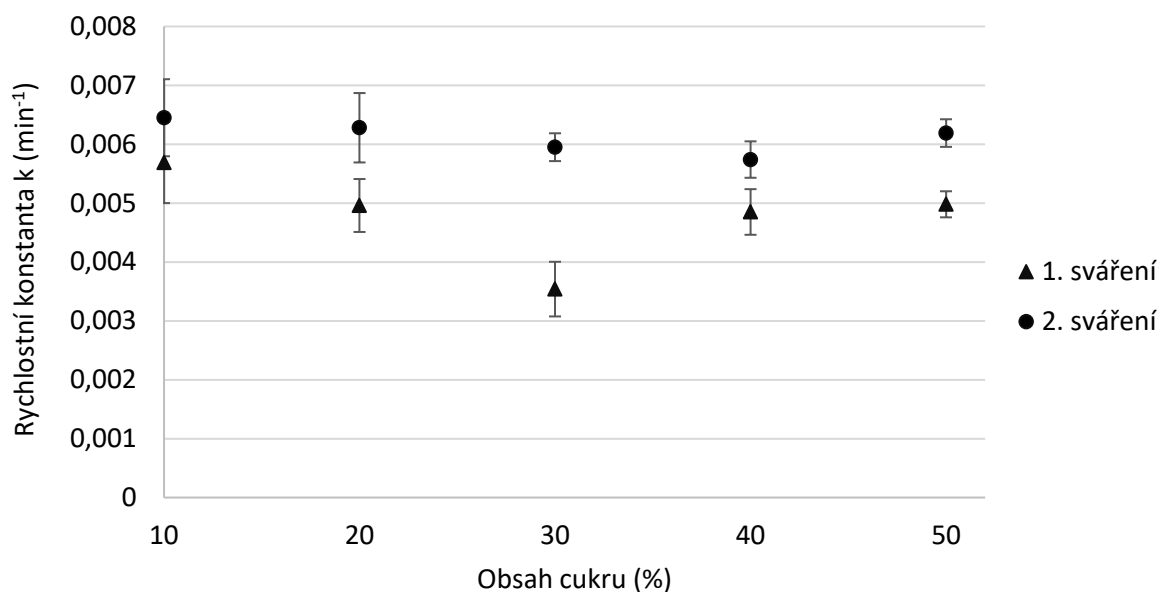
Pomocí HPLC/DAD byly naměřena koncentrace anthokyanů v průběhu času při sváření pomazánek. Z důvodu odlišných počátečních koncentrací anthokyanů u jednotlivých sváření (obsah cukru 10, 20, 30, 40 a 50 %) byl graf závislosti koncentrace na době sváření nahrazen grafem závislosti $\ln(c/c_0)$ na době sváření, kde c je koncentrace v čase t a c_0 je koncentrace v čase 0, neboli po smíchání výchozích surovin bez záhřevu. Odlišné počáteční koncentrace anthokyanů mohly být způsobeny nezhomogenizováním celé suroviny najednou z důvodu malé kapacity mixéru a tím rozdílnou dobou oxidace suroviny před samotným experimentem. Dále mohla rozdílnou počáteční koncentraci ovlivnit manipulace s rozmrazenými jahodami, po rozmixování dle potřeby skladovanými v lednici až několik hodin. Celý experiment sváře byl proveden celkem dvakrát. Byly vypočteny kinetické konstanty k pro jednotlivá sváření, která jsou spolu s kinetickými rovnicemi 1. řádu a hodnotami spolehlivosti R^2 . Na **Obr. 1** a **Obr. 2** je znázorněna závislost $\ln(c/c_0)$ na době sváření pomazánek s různým obsahem cukru kde c je koncentrace v čase t , c_0 je počáteční koncentrace, k je kinetická konstanta a y je posunutí počátku přímky po ose y . Na **Obr. 3** je znázorněna závislost rychlostní konstanty na obsahu cukru při sváření pomazánek.



Obr.1 Závislost $\ln(c/c_0)$ na době sváření pomazánek s různým obsahem cukru (1. sváření)



Obr. 2 Závislost $\ln(c/c_0)$ na době sváření pomazánek s různým obsahem cukru (2. sváření)



Obr. 3 Závislost rychlostní konstanty na obsahu cukru při sváření pomazánek

Závěr

Závislost rychlostních konstant na obsahu cukru při sváření pomazánek nebyla lineární. V případě prvního sváření byla rychlostní konstanta nejnižší u pomazánek s přídatkem 30 %. V případě druhého sváření však nelze nejnižší konstantu jednoznačně určit, rychlostní konstanta nabývala nejnižších hodnot u pomazánek s obsahem cukru 30, 40 a 50 %. Nejnižší rychlostní konstanta znamená nejnižší rychlost degradace anthokyanů, proto z tohoto experimentu vyplývá, že nejvíce stabilizační účinek na anthokyanů v průběhu sváření má obsah cukru 30, 40 a 50 %. Toto vyplývá i z **Obr. 1** a **Obr. 2**, kdy anthokyanů degradovaly nejpomaleji v pomazánkách s obsahem cukru 30 %

a následně s 40 a 50 % cukru, nejrychleji pak v pomazánkách s 10 a dále s 20% přídavkem cukru.

Použitá literatura

1. Bakr, A.A., *Application potential for some sugar substitutes in some low energy and diabetic foods*. Nahrung, 1997. **41**(3): p. 170-175.
2. Kopjar, M., et al., *Strawberry Jams: Influence of Different Pectins on Colour and Textural Properties*. Czech Journal of Food Science, 2009. **27**(1): p. 20-28.
3. Kovačević, D.B., et al., *Influences of organically and conventionally grown strawberry cultivars on anthocyanins content and color in purees and low-sugar jams*. Food Chemistry, 2015. **181**: p. 94-100.
4. Basu, A., et al., *Strawberry as a functional food: an evidence-based review*. Critical reviews in food science and nutrition, 2014. **54**(6): p. 790-806.
5. Alvarez-Suarez, J.M., et al., *The effects of pre-harvest and post-harvest factors on the nutritional quality of strawberry fruits: A review*. Journal of Berry Research, 2014. **4**(1): p. 1-10.
6. Giampieri, F., et al., *Strawberry as a health promoter: an evidence based review*. Food & Function, 2015. **6**(5): p. 1386-1398.
7. Wang, H., G. Cao, and R.L. Prior, *Total antioxidant capacity of fruits*. J. Agric. Food Chem., 1996. **44**: p. 701-705.
8. Hannum, S.M., *Potential impact of strawberries on human health: a review of the science*. Critical reviews in food science and nutrition, 2004. **44**(1): p. 1-17.
9. da Silva, F.L., et al., *Anthocyanin pigments in strawberry*. LWT-Food Science and Technology, 2007. **40**(2): p. 374-382.
10. Wicklund, T., et al., *Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions*. LWT - Food Science and Technology, 2005. **38**(4): p. 387-391.
11. Watanabe, Y., et al., *Effect of impregnation using sucrose solution on stability of anthocyanin in strawberry jam*. LWT - Food Science and Technology, 2011. **44**(4): p. 891-895.
12. Castañeda-Ovando, A., et al., *Chemical studies of anthocyanins: A review*. Food Chemistry, 2009. **113**(4): p. 859-871.
13. Shinwari, K.J. and P.S. Rao, *Stability of bioactive compounds in fruit jam and jelly during processing and storage: A review*. Trends in Food Science & Technology, 2018. **75**: p. 181-193.
14. Khoo, H.E., et al., *Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits*. Food & nutrition research, 2017. **61**(1): p. 1361779.
15. Kırca, A., M. Özkan, and B. Cemeroğlu, *Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins*. Food Chemistry, 2007. **101**(1): p. 212-218.
16. Cavalcanti, R.N., D.T. Santos, and M.A.A. Meireles, *Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems—An overview*. Food Research International, 2011. **44**(2): p. 499-509.
17. García-Viguera, C., et al., *Colour and anthocyanin stability of red raspberry jam*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1998. **78**(4): p. 565-573.
18. Eiro, M.J. and M. Heinonen, *Anthocyanin Color Behavior and Stability during Storage: Effect of Intermolecular Copigmentation*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002. **50**(25): p. 7461-7466.
19. Mercadante, A. and F. Bobbio, *Anthocyanins in foods: occurrence and physicochemical properties*. Food colorants: Chemical and functional properties, 2008: p. 241-276.
20. Giusti, M.M. and R.E. Wrolstad, *Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems*. Biochemical engineering journal, 2003. **14**(3): p. 217-225.
21. Garcia-Palazon, A., et al., *The effects of high hydrostatic pressure on β -glucosidase, peroxidase and polyphenoloxidase in red raspberry (*Rubus idaeus*) and strawberry (*Fragaria* $\times$ *ananas*)*. Food Chemistry, 2004. **88**(1): p. 7-10.
22. Danışman, G., E. Arslan, and A.K. Toklucu, *Kinetic analysis of anthocyanin degradation and polymeric colour formation in grape juice during heating*. Czech Journal of Food Sciences, 2015. **33**(2): p. 103-108.
23. Yalçınöz, Ş.K. and E.A. Erçelebi, *Anthocyanin degradation and colour kinetics of cornelian cherry concentrate*. Br. J. Appl. Sci. Technol, 2015. **10**(12): p. 1-12.
24. Moldovan, B., et al., *Degradation kinetics of anthocyanins from European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit extracts. Effects of temperature, pH and storage solvent*. Molecules, 2012. **17**(10): p. 11655-11666.

25. Prchalová, J., et al., *Evaluation of shelf-life of fruit baby food*. Agronomy Research, 2016. **14**(2): p. 556-568.

Projekt byl podpořen z „Programu aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství na období 2017-2025: ZEMĚ“ č. QK1910100 Vliv reformulace na trvanlivost a fyzikálně-chemické vlastnosti potravinářských výrobků.

Kontaktní adresa:

Ladislava Rýdlová
rydloval@vscht.cz

**Vliv reformulace lisovaných bílých sýrů
na chemické složení**

***Influence of reformulation of pressed white cheeses
on chemical composition***

**Tereza Škorpilová¹, Adam Tobolka¹, Diana Křížová¹, Irena Němečková², Šárka
Trešlová², Aleš Rajchl¹**

¹Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,
Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice

²Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6

Souhrn

Snižování obsahu soli v potravinách je cílem mnoha projektů jak v České republice, tak i ve světě. Její příjem je ve většině zemí vyšší, než je doporučený denní příjem. Na druhou stranu sůl plní v potravinách důležitou roli, protože se podílí na trvanlivosti, textuře, chuti a vůni. Z těchto důvodů je potřeba snižování soli provádět uvážlivě a sledovat vliv snižování soli v daných potravinách na tyto vlastnosti. V této práci bylo analyzováno chemické složení 20 vzorků lisovaných bílých sýrů vzhledem k jejich obsahu soli a době skladování pomocí techniky DART-TOF/MS. Získaná data byla statisticky zpracována pomocí analýzy hlavních komponent a byl vyhodnocen vliv snížení obsahu soli na chemické složení.

Klíčová slova: lisované bílé sýry, chemické složení, DART-TOF/MS, PCA

Summary

Reducing the salt content in food is the goal of many projects both in the Czech Republic and in the world. Its income is higher than the recommended daily income in most countries. On the other hand, salt plays an important role in food because it contributes to shelf-life, texture, taste, and aroma. For these reasons, it is necessary to perform salt reduction judiciously and to monitor the effect of salt reduction in given foods on these properties. In this work, the chemical composition of 20 samples of pressed white cheeses was analysed due to their salt content and storage time using the DART-TOF/MS technique. The obtained data were statistically processed by principal component analysis, and the effect of salt reduction on the chemical composition was evaluated.

Keywords: pressed white cheeses, chemical composition, DART-TOF/MS, PCA

Úvod

Doporučený denní příjem soli je pro dospělého člověka 5 g, přičemž v České republice je tento limit překračován až trojnásobně (KHS, 2015). Avšak nadlimitní příjem soli se netýká pouze České republiky, ale je to problém celosvětový (MZČR, 2013). Světová zdravotnická organizace proto vydala v roce 2021 soubor globálních referenčních hodnot pro hladiny soli (resp. sodíku) ve vybraných kategoriích potravin. Pro lisované bílé sýry je toto doporučení 520 mg Na/100 g, což představuje 1322 mg NaCl/100 g (WHO, 2021). V České republice se toto množství pohybuje u těchto sýrů mezi 980 až 1970 mg Na/100 g (Němečková et al., 2021).

Snižování obsahu soli v sýrech není jednoduchý proces, protože sůl zajišťuje v sýrech nejenom sensorické, ale i fyzikálně-chemické a technologické vlastnosti. Ze sensorických vlastností se jedná především o chuť a vůni a z technologického hlediska o texturu a trvanlivost lisovaných bílých sýrů. Cílem této práce bylo zhodnotit vliv snižování obsahu soli na chemické složení lisovaných bílých sýrů pomocí ionizační techniky DART ve spojení s TOF/MS.

Materiál a metody

Vzorky

Pro hodnocení vlivu obsahu soli na chemické složení bylo analyzováno 20 vzorků lisovaných bílých sýrů, které byly vyrobeny v provozních podmínkách tuzemského velkovýrobce. Použita byla klasická technologie výroby lisovaných bílých sýrů s tím, že byly experimentálně modifikovány podmínky solení. Sýry byly soleny v solné lázni (20 °C, 18 °C) po různě dlouhou dobu (0, 0,5, 2, 5 a 7 hodin) pro dosažení různého obsahu soli. Po solení byly sýry bez přídavku solného nálevu na baličce zabaleny do polymerní fólie a skladovány v lednici po dobu 5, 12, 26 a 40 dní při teplotě 4 °C (viz Tabulka 1). Před analýzou byly vzorky skladovány v mrazáku při teplotě -18 °C. Složení analyzovaných vzorků je uvedeno v Tabulce 2.

Tabulka 11: Označení a specifikace vzorků

Doba skladování	Obsah soli (g/100 g)				
	0,2	1,5	2,2	3,0	3,1
5 dnů	1-1	1-2	1-3	1-4	1-5
12 dní	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5
26 dní	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5
40 dní	4-1	4-2	4-3	4-4	4-5

Tabulka 12: Chemické složení vzorků sýrů

Doba solení (h)	Sůl (g/100 g)	Tuk (g/100 g)	Sušina (g/100 g)	VVTPH* (%)	t. v s.** (%)
0	0,23 ± 0,02	21,0 ± 0,0	44,02 ± 0,27	70,9	47,7
0,5	1,54 ± 0,15	20,5 ± 0,5	43,47 ± 1,44	71,1	47,2
2	2,18 ± 0,04	21,0 ± 0,0	43,99 ± 0,92	70,9	47,7
5	2,99 ± 0,13	21,0 ± 0,0	45,13 ± 0,49	69,5	46,5
7	3,10 ± 0,02	21,5 ± 0,5	45,39 ± 0,52	69,6	47,4

*VVTPH...Obsah vody v tukuprosté hmotě

**t. v s...obsah tuku v sušině

Příprava vzorků

Pro analýzu byl navážen 1 g zhomogenizovaného vzorku sýra do 50ml centrifugační zkumavky, a ke vzorku bylo přidáno 20 ml extrakčního činidla (metanol pro HPLC-MS (Merck KGaA, Německo), nebo toluen p.a. (P-LAB, Česká republika)). Tato směs byla homogenizována pomocí UltraTurraxu (IKA, Německo) po dobu 30 s (15 000 ot/min). Poté byl extrakt odstředěn (5 000 rpm, 10 min) na odstředivce Centrifuge 5430 (eppendorf, Česká republika). Do analýzy na DART-TOF/MS byl supernatant uchován v lednici při 4 °C.

DART-MS

Pro analýzu byla použita ionizační technika DART™ (IonSense Inc., USA) ve spojení s hmotnostním spektrometrem 6530 Accurate-Mass LC/Q-TOF (Agilent Technologies, USA). Vzorky byly nanášeny na vzorkovací tyčinky Dip-it™ (IonSense Inc., USA), které byly umístěny do autosampleru v pozicích 3, 5, 7 a 9. Ionizační plyn helium (čistota 5,5; průtok 3,0 l/min; ionizační teplota 350 °C). Parametry měření na hmotnostním detektoru byly: napětí na fragmentoru 175 V; na skimmeru 65 V, pozitivní i negativní mód (přičemž pro samotný experiment byl na základě optimalizace vybrán pouze pozitivní mód), měřicí rozsah m/z 50 – 1500 a rychlost snímání spekter 1 spektrum/s.

Statistická analýza

Pro každý vzorek bylo provedeno osm měření, aby bylo možné vyloučit odlehlé hodnoty. Po vyloučení odlehlých měření, byly zbylé neodlehlé měření zprůměrovány. PCA analýza byla provedena pomocí softwaru Statistica 13.1 (StatSoft, Inc.).

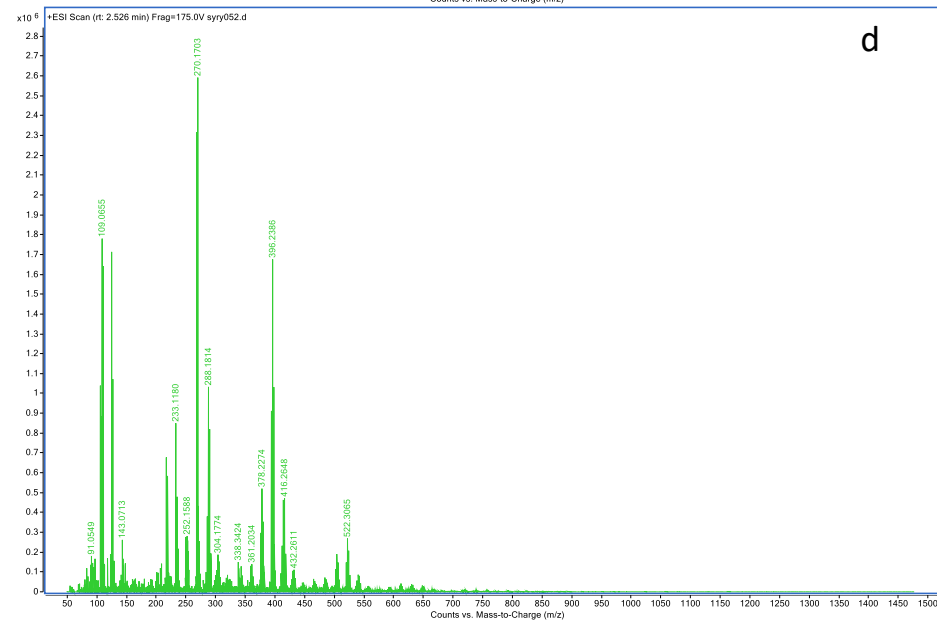
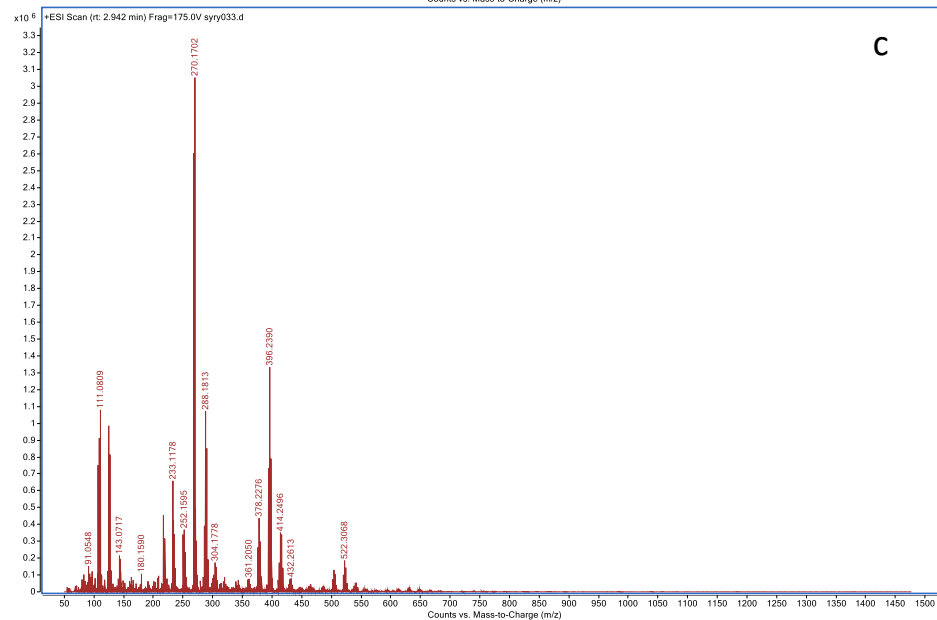
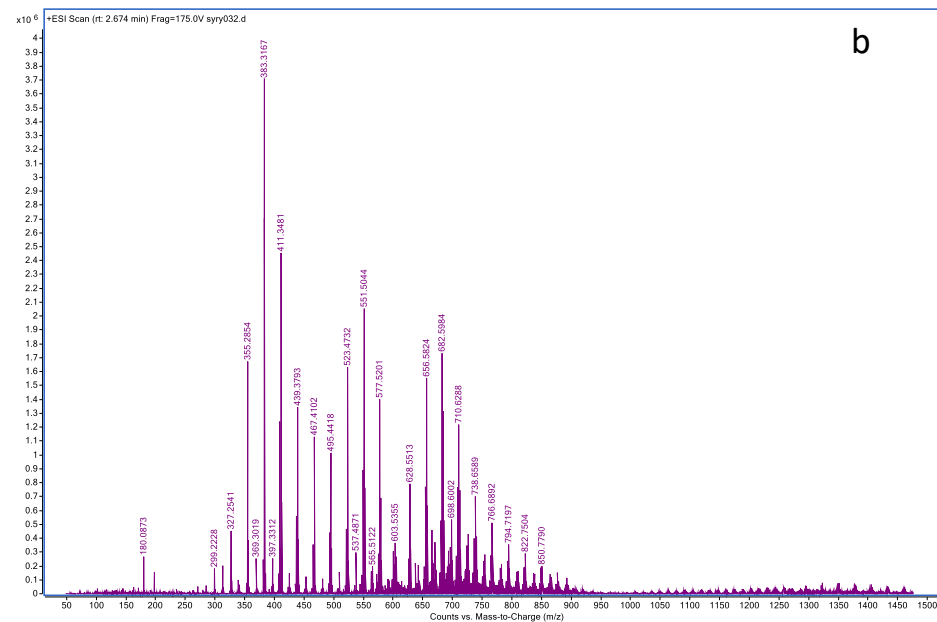
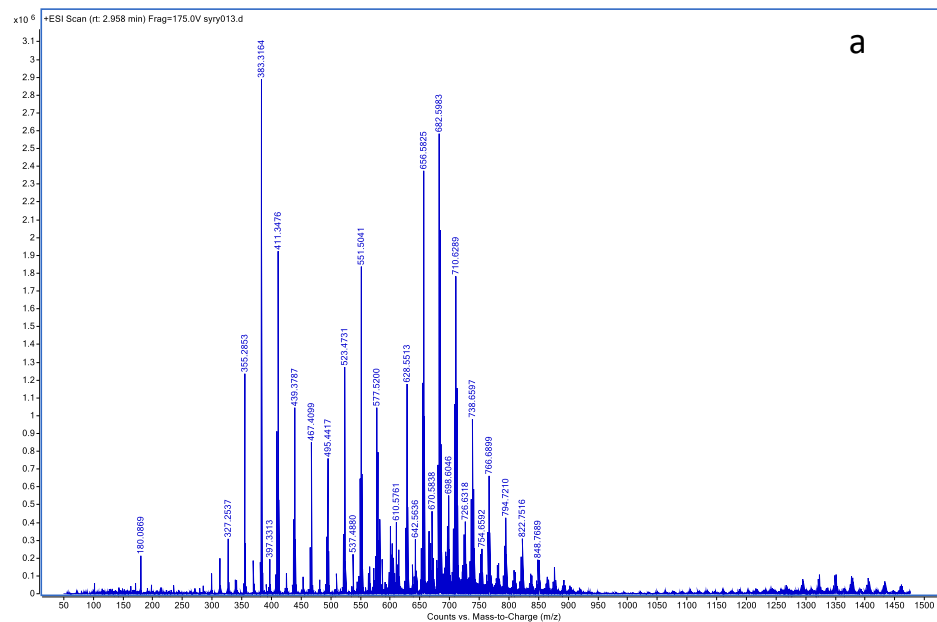
Data získaná metodou DART-TOF/MS (Obr. 1a, b, c, d) byla ze softwaru MassHunter (Agilent Technologies, USA) exportována do Excelu (Microsoft, Česká republika). V Excelu bylo použito makro, které umožňuje řazení dat podle m/z pro vybraný práh četnosti. Před statistickou analýzou byly proměnné (m/z) standardizovány. Popsaná metodika zpracování dat vychází z dřívějších prací (Rajchl et al., 2018). V prvním kroku byla provedena statistická analýza se všemi paralelkami, aby mohly být vyloučeny odlehlé hodnoty. Poté byla provedena statistická analýza neodlehlých zprůměrovaných paralelních stanovení (Obrázek 2 a 3).

Výsledky a diskuse

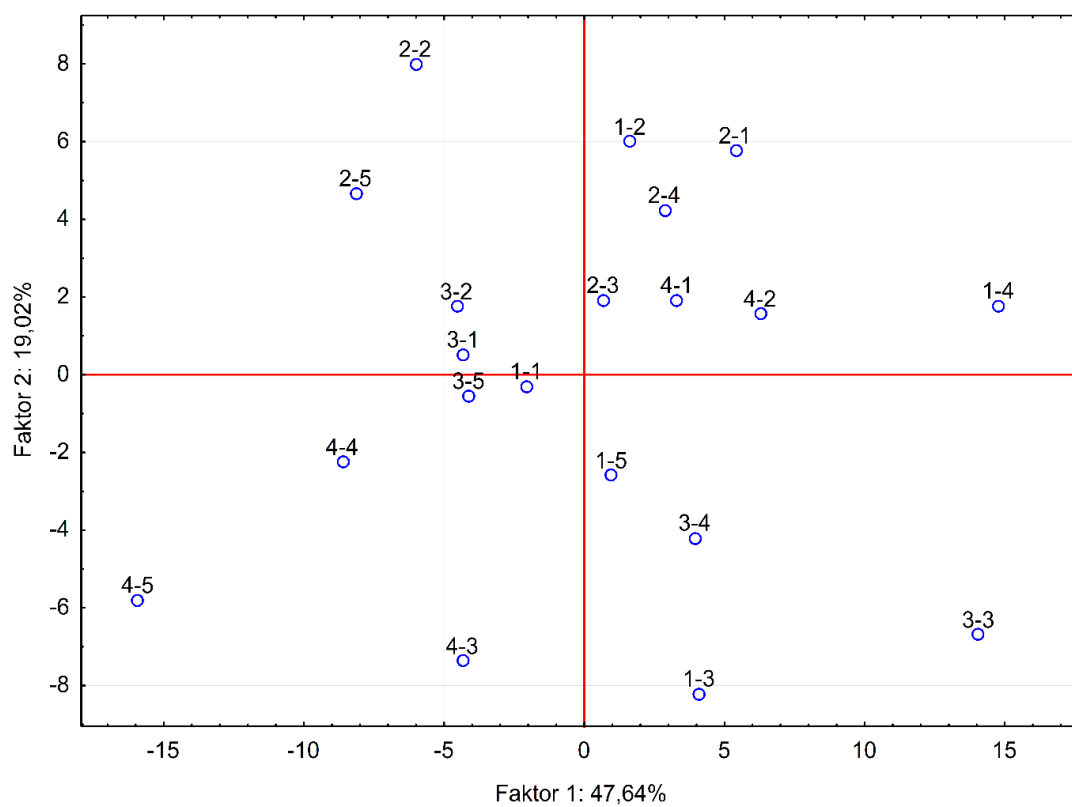
Na obrázcích (Obr. 1a, 1b) jsou spektra lisovaných bílých sýrů extrahovaných v metanolu v pozitivním ionizačním módu. V pozitivním módu je možné vidět charakteristické signály triacylglycerolů (TAG) obsahující mastné kyseliny s krátkým, středně dlouhým i dlouhým řetězcem v oblasti hmotnostního spektra m/z 500-800. V oblasti hmotnostního spektra s nižším m/z je možné pozorovat fragmenty TAG. Jedná se především o diacylglycerolové fragmenty $[M+H-R_iCO_2H]^+$, monoacylglycerolové fragmenty $[M+H-R_iCO_2-R_iCO]^+$ a acylové ionty $[RCO]^+$ (Václavík et al., 2011; Václavík et al., 2009). Na obrázcích (Obr. 1c, 1d) jsou spektra lisovaných bílých sýrů extrahovaných v toluenu v pozitivním módu. Na základě literatury (Hrbek et al., 2014) bylo očekáváno, že signály v oblasti m/z pro TAG (500-800) budou intenzivnější. Avšak tato skutečnost nebyla potvrzena. Příčinou mohlo být, že nebylo použito dopantu (páry amoniaku), který by zvýšil intenzitu signálu.

Pozitivní mód a teplota ionizace použité v případě obou extrakčních činidel byly vybrány na základě optimalizace, která byla provedena jak z ploch TIC (Total Ion Chromatogram), tak i z ploch vybraných m/z . Pro optimalizaci teploty byly zkoušeny teploty od 200 – 450 °C s krokem po 50 °C.

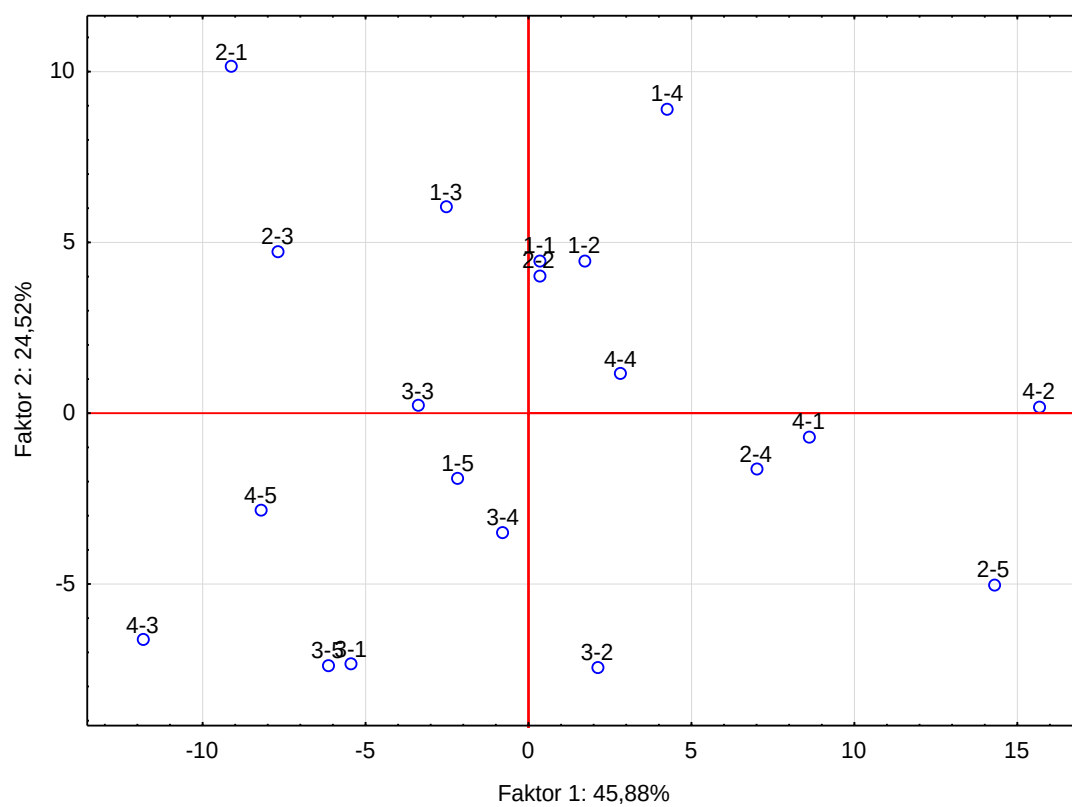
Po analýze všech připravených vzorků byla dalším krokem PCA analýza upravených dat (viz kap. *Statistická analýza*) z hmotnostních spekter. Nejprve byla provedena PCA analýza všech hmotnostních spekter jednotlivě, pro vyloučení odlehlých vzorků. Po vyloučení odlehlých vzorků byla data z neodlehlých paralelek zprůměrována, a z nich byla provedena PCA analýza pro použitá extrakční činidla zvlášť (Obr. 2 – metanol, Obr. 3 – toluen). Z výsledků PCA analýzy dat z hmotnostních spekter je patrné, že vzorky nevytvořily shluky v prostoru definovaném první a druhou hlavní komponentou. K rozlišení nedošlo v závislosti na obsahu soli, ani v závislosti na době skladování. Z PCA analýzy vyplývá, že obsah soli nemá jednoznačný vliv na chemické složení vzorků čerstvých nezrajících sýrů vzhledem k použité metodě (DART-TOF/MS). Jedná se především o složení TAGů, které byly v pozitivním módu dobře pozorovatelné v hmotnostních spektrech.



Obrázek 5: DART-MS hmotnostní spektra lisovaných bílých sýrů; a) vzorek 1-1, MetOH, pozitivní mód; b) vzorek 4-5, MetOH, pozitivní mód; c) vzorek 1-1, toluen, pozitivní mód; d) vzorek 4-5, toluen, pozitivní mód



Obrázek 6: PCA analýza hmotnostních spekter vzorků extrahovaných v metanolu



Obrázek 7: PCA analýza hmotnostních spekter vzorků extrahovaných v toluenu

Závěr

V předkládané práci byly použity dvě extrakční činidla (metanol, toluen) pro vzorky lisovaných bílých sýrů. Jako vhodnější extrakční činidlo byl vyhodnocen metanol, protože poskytoval intenzivnější signály v celém hmotnostním spektru. V hmotnostních spektrech byly dobře identifikovatelné především triacylglyceroly – oblast hmotnostního spektra m/z 500-800 a jejich fragmenty (di- a monoacylglyceroly). Z výsledků PCA analýzy dat z hmotnostních spekter vzorků lisovaných bílých sýrů vyplývá, že obsah soli nemá vliv na jejich chemické složení vzhledem k použité technice. Vzorky nevytvořily shluky v závislosti na obsahu soli, ani v závislosti na době skladování.

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

- Hrbek, V., Václavík, L., Elich, O., Hajšlová, J. (2014): Authentication of milk and milk-based foods by direct analysis in real time ionization-high resolution mass spectrometry (DART-HRMS) technique: A critical assessment. *Food Control*, 36(1), 138-145.
- KHS. (2015): Sůl v potravinách. *Krajská hygienická stanice moravskoslezského kraje se sídlem v Ostravě*. <https://www.khsova.cz/obcanum/detail/11985> (cit. 10. února 2022).
- MZČR. (2013): Nadměrná spotřeba soli přispívá k závažným onemocněním. *Ministerstvo zdravotnictví ČR*. <https://www.mzcr.cz/tiskove-centrum-mz/nadmerna-spotreba-soli-prispiva-k-zavaznym-onemocnenim/> (cit. 10. února 2022).
- Němečková, I., Trešlová, Š., Forejt, J., Švandrlík, Z., Kružík, V., Marhons, Š., Štětina, J. (2021): Snižování obsahu soli v lisovaných bílých sýrech. *Mlékařské listy*, 32(6), 1-7.
- Rajchl, A., Fernández Cusimamani, E., Prchalová, J., Ševčík, R., Čížková, H., Žiarovská, J., Hrdličková, M. (2018): Characterisation of yacon tuberous roots and leaves by DART-TOF/MS. *Int. J. Mass Spectrom.*, 424, 27-34.
- Václavík, L., Čajka, T., Hrbek, V., Hajšlová, J. (2009): Ambient mass spectrometry employing direct analysis in real time (DART) ion source for olive oil quality and authenticity assessment. *Analytical Chimica Acta*, 645, 56-63.
- Václavík, L., Hrbek, V., Čajka, T., Rohlík, B-A., Pipek, P., Hajšlová, J. (2011): Authentication of animal fats using direct analysis in real time (DART) ionization

mass spectrometry and chemometric tools. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 5919-5926.

WHO. (2021): WHO global sodium benchmarks for different food categories.
<https://www.who.int/publications/i/item/9789240025097>.

Kontaktní adresa:

Ing. Tereza Škorpilová, Ph.D.

e-mail: tereza.skorpilova@vscht.cz

Tolerance nežádoucích octových bakterií ke kyselině octové ve vazbě na průmyslovou výrobu nealkoholických nápojů

Tolerance of undesirable acetic acid bacteria to acetic acid in connection with industrial production of non-alcoholic drinks

Šviráková Eva, Krupinský Jaroslav

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

Souhrn

Při průmyslových výrobach nealkoholických nápojů, zejména nesycených a ochucených, dochází často k jejich nežádoucí kontaminaci bakteriemi ze skupiny takzvaných octových bakterií. Tyto bakterie jsou zodpovědné za mikrobiální kažení a znehodnocení nápojů, což se projevuje různými defekty. Nejčastěji jde o senzorické změny vůně, chuti a textury nápojů. Octové bakterie vykazují, mimo jiné, také různou toleranci ke kyselině octové, kterou dominantně produkují. Cílem této práce bylo zjistit toleranci 9 kmenů octových bakterií, originálně pocházejících z kontaminovaných potravinových nebo přírodních zdrojů, ke kyselině octové o různých koncentracích (0–15,0 obj. %) s využitím spektrofotometrické metody (A_{850}), v laboratorních podmínkách. Na základě uskutečněných experimentů bylo zjištěno, že ke kyselině octové vykazovaly nejvyšší toleranci (+) všechny tři kmeny *Gluconacetobacter hansenii* CCM 1808, *Gluconacetobacter liquefaciens* CCM 3621 a *Gluconacetobacter xylinus* CCM 3611; konkrétně šlo o koncentraci kyseliny octové 1,00 obj. %. Žádný z testovaných kmenů netoleroval (–) kyselinu octovou o vyšších koncentracích 2,50–15,00 obj. %. Výsledky této práce mohou být využitelné zejména při průmyslové výrobě nealkoholických nesycených ochucených nápojů na různých bázích (např. na bázi sladké vody, minerální vody nebo syrovátky), při účinné eliminaci nežádoucích octových bakterií, s cílem zvýšení zdravotní bezpečnosti a jakosti nealkoholických nápojů.

Klíčová slova: nealkoholické nápoje, nežádoucí octové bakterie, rizikovost, tolerance ke kyselině octové, zdravotní mikrobiologická bezpečnost

Summary

In the industrial production of non-alcoholic drinks, especially of non-carbonated and flavoured ones, they are often present undesirable bacteria from the group of so-called acetic acid bacteria. These bacteria are responsible for microbial spoilage and beverage degradation, which manifests itself in the form of various defects. The most often it is about sensory changes in smell, taste and texture of drinks. Acetic acid bacteria also show, among other things, different tolerances to acetic acid, which they dominantly produce. The aim of this work is to determine tolerance of 9 strains of acetic acid bacteria, originated from contaminated food or natural sources, to the acetic acid at various concentrations (0–15.0 % v/v), using the spectrophotometric method (A_{850}), under laboratory conditions. Based on the performed experiments it was found that all three strains of *Gluconacetobacter hansenii* CCM 1808, *Gluconacetobacter liquefaciens* CCM 3621 and *Gluconacetobacter xylinus* CCM 3611 had the highest tolerance (+) to acetic acid at concentration of 1.00 % (v/v). None of the tested strains tolerated (–) acetic acid to the higher concentrations of 2.50–15.00 % (v/v). The results of this work can be used especially during industrial production

of non-alcoholic flavoured drinks on various bases (e.g. on fresh water, mineral water or whey), with effective elimination of undesirable acetic acid bacteria, in order to increase health safety and quality of non-alcoholic drinks.

Keywords: non-alcoholic drinks, undesirable acetic acid bacteria, riskiness, tolerance to acetic acid, health microbiological safety

ÚVOD

V souvislosti s výskytem nežádoucích octových bakterií v nápojářském průmyslu je možno konstatovat, že těmito bakteriemi bývají často kontaminovány průmyslové výroby nealkoholických nápojů (které vyrábějí nealkoholické nápoje na různých bázích, např. na bázi sladké vody, minerální vody či syrovátky) nebo výroby alkoholických nápojů (které vyrábějí alkoholické nápoje typu piva, vína, cidery aj.). Kontaminující octové bakterie jsou zodpovědné za mikrobiální kažení a znehodnocení nápojů v důsledku fermentace za vzniku ethanolu, což se projevuje vznikem nežádoucího zápachu a chuti (Bartowsky a Henschke, 2008; Sengun a Karabiyikli, 2011; Kregiel a kol., 2018). K těmto senzorickým defektům mohou být přiřazeny i změny textury. Např. u nealkoholických nesycených nápojů často dochází ke vzniku okem viditelných vloček, klků nebo sedimentů, případně může dojít k vytvoření povrchových biofilmů (Kregiel a kol., 2018).

Další problém může nastat u výrobků, jakými jsou např. octy. Během jejich výroby může někdy dojít k nežádoucímu nahromadění bakteriální celulózy, vytvořené kontaminujícími octovými bakteriemi (mezi známé producenty mikrobiální celulózy patří bakterie druhů *Gluconacetobacter hansenii* a *Gluconobacter xylinus*). Díky tomu musí být výrobníky sanitovány v pravidelných intervalech a zároveň šetrně tak, aby nedocházelo k poškození výrobního zařízení. Před plněním organického octa (to znamená octa vyrobeného bez konzervačních látek) do spotřebitelských lahví se ocet filtruje. Pokud není filtrace 100% účinná, může po otevření nebo při porušení láhví dojít k pomnožení octových bakterií v důsledku zvýšeného objemu okolního kyslíku. Tím se zároveň může zvýšit i pravděpodobnost tvorby bakteriální celulózy kontaminujícími octovými bakteriemi. Tento jev může nastat i u octa vyrobeného s použitím konzervačních látek, nicméně k tomuto jevu nedochází až tak často (Gomes a kol., 2018).

Cílem této práce bylo zjistit toleranci nežádoucích octových bakterií ke kyselině octové o různých koncentracích (0–15,0 obj. %) s využitím spektrofotometrické metody (A_{850}), ve vazbě na zdravotně mikrobiologicky bezpečnou a technologicky nerizikovou průmyslovou výrobu nealkoholických nápojů.

MATERIÁL A METODY

Použité bakteriální kmeny

Pro experimenty bylo použito 9 bakteriálních kmenů, řazených do skupiny tzv. octových bakterií. Konkrétně šlo o tři kmeny *Gluconacetobacter* spp. (*Gla. hansenii* CCM 1808, *Gla. liquefaciens* CCM 3621, *Gla. xylinus* CCM 3611), pět kmenů *Gluconobacter* spp. (*Gln. albidus* CCM 2365, *Gln. cerinus* CCM 1792, *Gln. Cerinus* CCM 1860T, *Gln. oxydans* CCM 1772, *Gln. oxydans* CCM 3618) a jeden kmen *Kozakia baliensis* CCM 7137. Kmeny byly uloženy ve Sbírce mikroorganismů (Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha). Specifikace a původ použitých kmenů jsou uvedeny v Tab. 1.

Tab. 1: Použité kmeny octových bakterií

Bakteriální kmen	Původ kmene
<i>Gluconacetobacter hansenii</i> CCM 1808	Ocet
<i>Gluconacetobacter liquefaciens</i> CCM 3621	Sušené kaki (JPN)
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> CCM 3611 ^T	Paříž (FRN)
<i>Gluconobacter albidus</i> CCM 2365	Jiřina sp. (<i>Dahlia coccinea</i>)
<i>Gluconobacter cerinus</i> CCM 1792	Nespecifikováno
<i>Gluconobacter cerinus</i> CCM 1806 ^T	Muškat vzpřímený (<i>Pelargonium zonale</i>)
<i>Gluconobacter oxydans</i> CCM 1772	Nespecifikováno
<i>Gluconobacter oxydans</i> CCM 3618	Hroznové víno
<i>Kozakia baliensis</i> CCM 7137	Palmový cukr

CCM... The Czech Collection of Microorganisms

Oživení testovaných kmenů

Testované kmeny byly oživeny ze zamrazených zdrojů uložených ve Sbírce mikroorganismů (Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha). Tyto kmeny byly získány (v lyofilizované formě) z České sbírky mikroorganismů (CCM) Masarykovy Univerzity (CZE). Rozmrazené suspenze buněk jednotlivých kmenů byly inokulovány (inokulum 1,0 obj. %) do sterilního Sabouraudova bujónu se 4,0 % hm. glukózy (Merck KGaA, DEU) (dále jen bujón SB) (10,0 ml) za aseptických podmínek. Poté následovaly kultivace kmenů (viz následující text).

Kultivace testovaných kmenů

Z testovaných octových bakterií byly konkrétně kmeny *Gluconacetobacter* spp. aerobně kultivovány v bujónu SB (inokulum 1,0 obj. %), při teplotě 25 °C, po dobu 48 h. Kmeny *Gluconobacter* spp. a kmen *Kozakia* sp. byly aerobně kultivovány v bujónu SB (inokulum 1,0 obj. %), při teplotě 30 °C, po dobu 48 h. Po skončení kultivací byly kmeny buď použity k následujícím experimentům, anebo přemístěny do chladničky (4 °C) a zde uchovány. Kmeny byly přeočkovávány (inokulum 1,0 obj. %) 1× za 7 dní do sterilního bujónu SB (10,0 ml).

Stanovení tolerance testovaných kmenů ke kyselině octové

U testovaných kmenů byla zjišťována jejich tolerance ke kyselině octové. Byly testovány koncentrace kyselině octové v širším rozmezí hodnot 0–15,00 obj. %; konkrétně šlo o následující koncentrační řadu (0; 0,10; 0,20; 0,30; 0,35; 0,40; 0,50; 1,00; 2,50; 5,00; 7,50; 10,0; 12,5 a 15,0 obj. %). Vlastní stanovení tolerance octových bakterií ke kyselině octové probíhalo s využitím spektrofotometrické metody (A_{850}), a to na laboratorním kontinuálním spektrofotometru EPOCH 2 (BioTek Instruments, USA) (viz Obr. 1). Měření probíhalo při teplotě 30 °C, resp. při teplotě 25 °C, během 0–90 h, s frekvencí třepání 237 cpm, a při změně rotace otáček po 1,0 s. Konkrétně šlo o měření optických hustot buněčných suspenzí jednotlivých kmenů v závislosti na reálném

čase jejich kultivací, a to při zvolené vlnové délce 850 ± 15 nm. Experimenty byly prováděny ve speciálních transparentních mikrotitračních destičkách (s rovným dnem) vhodných pro spektrofotometrické stanovení. Do jamek byl nejprve pipetován vodný roztok kyseliny octové o dané koncentraci (100 μ l), a poté suspenze buněk konkrétního testovaného kmene (100 μ l); vše bylo připraveno ve třech paralelách. Mikrotitrační destičky s obsahy byly následně podrobeny aerobní kultivaci při teplotě 30 °C, příp. při teplotě 25 °C, po dobu 90 h. Přípravné práce pro tyto experimenty byly provedeny na Ústavu konzervace potravin VŠCHT Praha s tím, že spektrofotometrická měření byla uskutečněna na Ústavu biochemie a mikrobiologie VŠCHT Praha.



Obr. 1: Laboratorní spektrofotometr EPOCH 2 (BioTek Instruments, USA) používaný pro měření absorbance v reálném čase v rozmezí spekter UV-VIS, s možností nastavení vlnové délky s rozmezí hodnot $\lambda = 200\text{--}999$ nm, s možností nastavení teploty do 65 °C, s frekvencí třepání objemů mikrotitrační destičky, s počtem pozic k měření 6 až 384 (BioTek, 2022).

Zamrazení a uchování testovaných kmenů

Testované kmeny byly po skončení experimentů zamrazeny a uchovány na Ústavu konzervace potravin VŠCHT Praha v mrazicím boxu při teplotě -20 °C. Příprava zamrazených zásob kmenů probíhala následovně. Do plastových kryogenních mikrozkušavek s kónickým dnem (o objemu 2,0 ml) byl pipetován 60% vodný roztok glycerolu (0,5 ml). Mikrozkušavky s glycerolem byly sterilovány v autoklávu při teplotě 121 °C, po dobu 15 min, za tlaku 0,15 MPa (ČSN EN ISO 7218, 2008). Po vychladnutí zkumavek byly ke glycerolu za aseptických podmínek ve flow-boxu přidány čerstvě narostlé suspenze buněk konkrétních kmenů octových bakterií (1,0 ml). Kmeny byly před tím kultivovány v bujónu SB, při teplotě 30 °C (což platilo pro kmeny *Gluconacetobacter* spp.), resp. při teplotě 25 °C (což platilo pro kmeny *Gluconobacter* spp. a *Kozakia* sp.), po dobu 48 h. Obsahy mikrozkušavek byly pečlivě uzavřeny, vortexovány a uloženy do mrazicího boxu s teplotou -20 °C. Za takových podmínek je možné udržet kmeny vitální (po rozmrazení za standardních podmínek) po dobu cca do 2 let od jejich zamrazení.

VÝSLEDKY

Tolerance octových bakterií ke kyselině octové

Devět testovaných kmenů octových bakterií *Gluconacetobacter* spp. (3 kmeny), *Gluconobacter* spp. (5 kmenů) a *Kozakia* sp. (1 kmen) bylo podrobeno testům tolerance ke kyselině octové o koncentracích v rozmezí hodnot 0–15,0 obj. % (konkrétně šlo o následující koncentrace: 0; 0,10; 0,20; 0,30; 0,35; 0,40; 0,50; 1,00; 2,50; 5,00; 7,50; 10,0; 12,5 a 15,0 obj. %).

Kvalitativní výsledky tolerance testovaných octových bakterií ke kyselině octové o různých koncentracích (0–15,0 obj. %), získané během měření na laboratorním spektrofotometru EPOCH 2 (BioTech Instruments, USA), jsou uvedeny v Tab. 1. Výsledky představují průměr ze dvou uskutečněných měření, přičemž každý vzorek byl realizován ve třech paralelách.

Tab. 1: Tolerance octových bakterií ke kyselině octové o různých koncentracích (0–15,0 obj. %) – kvalitativní výsledky; aerobní kultivace kmenů v bujónu SB, při teplotě 30 °C (platilo pro kmeny *Gluconacetobacter* spp.), resp. při teplotě 25 °C (platilo pro kmeny *Gluconobacter* spp. a *Kozakia* sp.), po dobu 0–90 h; měření na laboratorním spektrofotometru EPOCH 2 (BioTech Instruments, USA)

Bakteriální kmen	Kyselina octová (obj. %)													
	0	0,10	0,20	0,30	0,35	0,40	0,50	1,00	2,50	5,00	7,50	10,00	12,50	15,00
<i>Gluconacetobacter hansenii</i> CCM 1808	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	–	–	–	–	–	–
<i>Gluconacetobacter liquefaciens</i> CCM 3621	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	–	–	–	–	–	–
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> CCM 3611	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	–	–	–	–	–	–
<i>Gluconobacter albidus</i> CCM 2365	+++	+++	+++	+++	++	+	+	–	–	–	–	–	–	–
<i>Gluconobacter cerinus</i> CCM 1792	+++	+++	+++	+++	++	+	+	–	–	–	–	–	–	–
<i>Gluconobacter cerinus</i> CCM 1806 ^T	+++	+++	+++	+++	++	+	+	–	–	–	–	–	–	–
<i>Gluconobacter oxydans</i> CCM 1772	+++	+++	+++	+++	++	+	+	–	–	–	–	–	–	–
<i>Gluconobacter oxydans</i> CCM 3618	+++	+++	+++	+++	++	+	+	–	–	–	–	–	–	–
<i>Kozakia baliensis</i> CCM 7131	+++	+++	+++	+++	++	+	+	–	–	–	–	–	–	–

+++ ... silný nárůst kmene (žádná lag-fáze, vysoké hodnoty optických denzit)

++... střední nárůst kmene (středně dlouhá lag-fáze: 0–8 h, střední hodnoty optických denzit)

+... slabý nárůst kmene (dlouhá lag-fáze: 9–90 h, nízké hodnoty optických denzit)

–... žádný nárůst kmene

Na základě zjištěných výsledků prezentovaných v Tab. 1 bylo konstatováno, že všech 9 kmenů tolerovalo kyselinu octovou až do koncentrace 0,50 obj. % (+) včetně s tím, že tři testované kmeny *Gluconacetobacter* spp. (*Gla. hansenii* CCM 1808, *Gla. liquefaciens* CCM 3621, *Gla. xylinus* CCM 3611) tolerovaly kyselinu octovou až do koncentrace 1,00 obj. % (+) včetně. Žádný kmen netoleroval kyselinu octovou v rozmezí vyšších testovaných koncentrací 2,50–15,00 obj. % (–). Ke kyselině octové vykazovaly tedy nejvyšší toleranci tři testované kmeny *Gluconacetobacter* spp. (*Gla. hansenii* CCM 1808, *Gla. liquefaciens* CCM 3621, *Gla. xylinus* CCM 3611); šlo o koncentraci kyseliny octové 1,00 obj. % (+).

ZÁVĚR

Z 9 testovaných kmenů octových bakterií (jednalo se o tři kmeny *Gluconacetobacter* spp., pět kmenů *Gluconobacter* spp. a jeden kmen *Kozakia* sp.) vykazovaly ke kyselině octové nejvyšší toleranci všechny tři kmeny *Gluconacetobacter* spp. (*Gla. hansenii* CCM 1808, *Gla. liquefaciens* CCM 3621 a *Gla. xylinus* CCM 3611); šlo o koncentraci kyseliny octové 1,00 obj. % (+). Žádný z testovaných kmenů netoleroval kyselinu octovou o vyšších koncentracích 2,50–15,00 obj. % (–). Výsledky získané v rámci této práce mohou být využitelné zejména při průmyslové výrobě nealkoholických nesycených ochucených nápojů na různých bázích (např. na bázi sladké vody, minerální vody nebo syrovátky), při účinné eliminaci nežádoucích octových bakterií, s cílem zvýšení zdravotní bezpečnosti a jakosti nealkoholických nápojů.

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", s dobou řešení projektu: 02/2017–12/2021.

LITERATURA

- Bartowsky, E. J.; Henschke, P. A. Acetic acid bacteria spoilage of bottled red wine a review. *International Journal of Food Microbiology*, **2008**, 125, 60–70.
- BioTek, Epoch 2, Microplate Spectrophotometer [Online] **2022**, <https://www.biotek.com/products/detection-microplate-readers/epoch-2-microplate-spectrophotometer/> (accessed 11. 2. 2022).
- ČSN EN ISO 7218. *Mikrobiologie potravin a krmiv – Všeobecné požadavky a doporučení pro mikrobiální zkoušení*. Praha: Český normalizační institut, **2008**, 68.
- Gomes, R. J.; Borges, M. d. F.; Rosa, M. d. F.; Castro-Gómez, R. J. H.; Spinosa, W. A. Acetic acid bacteria in the food industry: systematics, characteristics and applications. *Food Technology and Biotechnology*, **2018**, 56, 139–151.
- Kregiel, D.; James, S. A.; Rygala, A.; Berłowska, J.; Antolak, H.; Pawlikowska, E. Consortia formed by yeasts and acetic acid bacteria *Asaia* spp. in soft drinks. *Antonie van Leeuwenhoek*, **2018**, 111, 373–383.
- Sengun, I. Y.; Karabiyikli, S. Importance of acetic acid bacteria in food industry. *Food Control* **2011**, 22, 647–656.

Kontaktní adresa

Ing. Eva Šviráková, Ph.D., Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3/5, 166 28 Praha 6 – Dejvice, Česká republika, e-mail: eva.svirakova@vscht.cz

P21

Mikrobiologické i chemické riziko výskytu nežádoucích bakterií *Asaia lannensis* v nealkoholických nápojích

Microbiological and chemical risk of undesirable Asaia lannensis bacteria in non-alcoholic beverages

Šviráková Eva¹, Buňková Leona²

¹ Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,
Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice

² Ústav inženýrství ochrany životního prostředí, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Souhrn

Bakterie rodu *Asaia* představují zdravotně a technologicky nežádoucí bakterie často kontaminující nealkoholické ochucené nesycené nápoje. Díky globalizaci se rozšířily po jiných částech světa přes suroviny a výrobky rostlinného původu. Snížená jakost nealkoholických nápojů se projevuje vznikem senzorických vad, jako jsou intenzivní kyselé přípach, zákal, sediment či biofilm. Druhy *Asaia bogorensis* a *Asaia lannensis* jsou oportunními patogeny způsobujícími u imunokompromitovaných osob vážné nozokomiální infekce. Produkce biogenních aminů u *Asaia* spp. je z toxikologického hlediska zajímavá. Cílem této práce je identifikovat 11 kmenů *Asaia* spp., izolovaných z průmyslově vyrobených kontaminovaných nealkoholických nápojů, s následným zjištěním jejich růstové aktivity a produkce biogenních aminů. Bylo zjištěno, že všechny průmyslové izoláty *Asaia* spp. byly identifikovány jako druh *Asaia lannensis* se shodou minimálně 99,0 % pomocí metody sekvenování genu kódujícího 16S rDNA, že byly identifikovány na spolehlivé úrovni druhu jako *Asaia lannensis* s využitím metody MALDI-TOF MS, a že produkovaly 8 biogenních aminů (fenylethylamin, histamin, kadaverin, putrescin, spermidin, spermin, tryptamin, tyramin) o koncentracích v rozmezí hodnot 2,2–824,2 mg·l⁻¹ (šlo o hodnoty celkových produkcí biogenních aminů) s využitím metody HPLC po derivatizaci s dansylchloridem. Výsledky této práce mohou být využity v průmyslových výrobnách nealkoholických nápojů, ve směru zvýšení zdravotní mikrobiologické i chemické bezpečnosti finálních výrobků, při cílené eliminaci nežádoucích bakterií *Asaia lannensis*.

Klíčová slova: *Asaia lannensis*, nežádoucí bakterie, nealkoholické nápoje, kontaminace, zdravotní mikrobiologická bezpečnost, zdravotní chemická bezpečnost.

Summary

Bacteria of the *Asaia* genus represent health and technological undesirable bacteria often contaminating non-alcoholic flavoured non-carbonated beverages. Due to globalization, they have spread across the world through raw materials and products of plant origin. Decreased quality of non-alcoholic beverages results in sensory defects such as intensive acid smell, turbidity, sediment or biofilm. *Asaia bogorensis* and *Asaia lannensis* are opportunistic pathogens causing serious nosocomial infection in immunocompromised individuals. Production of

biogenic amines in *Asaia* spp. is interesting from the toxicological point of view. The aim of this work is to identify 11 strains of *Asaia* sp., isolated from industrially produced contaminated non-alcoholic beverages, with followed determination of their growth activity and production of biogenic amines. It was found, that all food industrial isolates of *Asaia* sp.: have been identified as *Asaia lannensis* species with at least 99.0 % compliance using the method of sequencing the gene encoding 16S rDNA, have been identified at the reliable species level as *Asaia lannensis* using the MALDI-TOF MS method, have produced 8 biogenic amines in the concentrations range of 2.2–824.2 mg·l⁻¹ (there were the values of the total biogenic amine production) using the HPLC method. The results of this work can be used in the industrial plants of non-alcoholic beverages, in the direction of increasing the health microbiological and chemical safety of final products, with the targeted elimination of undesirable bacteria *Asaia lannensis*.

Keywords: *Asaia lannensis*, undesirable bacteria, contamination, non-alcoholic beverages, contamination, health microbiological safety, health chemical safety.

ÚVOD

Bakterie rodu *Asaia* jsou taxonomicky řazeny do čeledi Acetobacteraceae a interně jsou řazeny do skupiny takzvaných octových bakterií (Qiu a kol., 2021). Primárně se nacházejí v přírodním prostředí tropických oblastí Asie a Afriky (Samaddar a kol., 2011). Konkrétně se nacházejí např. na rostlinách a hmyzu, a také na potravinových surovinách a výrobcích pocházejících z těchto oblastí (například na exotickém ovoci čerstvém i sušeném, na hroznovém vínu, v ovocných šťávách/džusech, ve fermentované lepkavé rýži) (Bassene a kol., 2020). Díky globalizaci se rozšířily i po jiných částech světa, a to zejména přes potravinové suroviny a výrobky rostlinného původu.

Bakterie *Asaia* spp. jsou představiteli zdravotně a technologicky nežádoucích bakterií, které často kontaminují nealkoholické nápoje (Antolak a kol., 2016), a to především nápoje ochucené a nesycené. Snížená jakost nealkoholických nápojů se projevuje vznikem senzorických vad (Kregiel a kol., 2018), jako jsou intenzivní kyselé přípach, zákal, sediment či biofilm.

Z hlediska zdravotní mikrobiologické bezpečnosti nejsou bakterie *Asaia* spp. pro člověka primárními patogeny (Grogan a kol., 2021). Navzdory tomu, jsou sledovány dva druhy *Asaia bogorensis* a *Asaia lannensis*, které mají statut oportunních patogenů způsobujících vážné nozokomiální infekce u imunokompromitovaných osob (Epis a kol., 2012). Z hlediska zdravotní chemické bezpečnosti, konkrétně z toxikologického hlediska, je u bakterií *Asaia* spp. zajímavá produkce biogenních aminů, přestože tato u nich nebyla doposud šířeji zkoumána a publikována. Biogenní aminy jsou obecně definovány jako škodlivé dusíkaté sloučeniny produkované převážně bakteriemi při dekarboxylaci aminokyselin v různých potravinách a nápojích (Mah a kol., 2019).

Cílem této práce je identifikovat 11 kmenů *Asaia* spp., izolovaných z průmyslově vyrobených kontaminovaných nealkoholických nápojů, s následným zjištěním jejich růstové aktivity a produkce biogenních aminů.

MATERIÁL A METODY

Použité bakteriální kmeny

K experimentům bylo použito celkem 14 kmenů *Asaia* spp. Z toho šlo o tři sbírkové kmeny (*Asaia lannensis* BCC 15734, *Asaia krungthepensis* CCM 7333^T, *Asaia siamensis* CCM 7132^T) a 11 potravinových izolátů *Asaia lannensis*, získaných z různých nealkoholických ochucených i neochucených průmyslově vyrobených nealkoholických nápojů. Kmeny byly uloženy ve Sbírce mikroorganismů (Ústav konzervace potravin, VŠCHT Praha). Označení a původ použitých bakteriálních kmenů je uveden v Tab. 1.

Tab. 1: Použité bakteriální kmeny

Bakteriální kmen	Původ kmene
<i>Asaia krungthepensis</i> CCM 7333 ^T	Korunní lístky květů rostliny <i>Calotropis gigantea</i> (THA)
<i>Asaia siamensis</i> CCM 7132 ^T	Korunní lístky květů rostliny <i>Heliconia</i> (THA)
<i>Asaia lannensis</i> BCC 15734	Nealkoholický nápoj: minerální voda s příchutí pampelišky, maliny a meduňky (CZE)
<i>Asaia lannensis</i> 3	Nealkoholický nápoj: bez specifikace (CZE)
<i>Asaia lannensis</i> 8	Nealkoholický nápoj: voda bez příchutě (CZE)
<i>Asaia lannensis</i> 9	Nealkoholický nápoj: voda bez příchutě (CZE)
<i>Asaia lannensis</i> 10	Nealkoholický nápoj: nápoj s příchutí zeleného čaje (CZE)
<i>Asaia lannensis</i> 11	Nealkoholický nápoj: voda s příchutí maliny (CZE)
<i>Asaia lannensis</i> 12	Nealkoholický nápoj: nápoj s příchutí zeleného čaje (CZE)
<i>Asaia lannensis</i> 15A	Nealkoholický nápoj: voda s příchutí maliny (CZE)
<i>Asaia lannensis</i> 15B	Nealkoholický nápoj: voda s příchutí maliny (CZE)
<i>Asaia lannensis</i> 15C	Nealkoholický nápoj: voda s příchutí maliny (CZE)
<i>Asaia lannensis</i> 15D	Nealkoholický nápoj: voda s příchutí maliny (CZE)
<i>Asaia lannensis</i> 15E	Nealkoholický nápoj: voda s příchutí maliny (CZE)

CCM... Česká sbírka mikroorganismů (the Czech Collection of Microorganisms) (CZE)

BCC... BIOTECH sbírka mikroorganismů (the BIOTEC Culture Collection) (THA)

Kultivace testovaných kmenů

Kmeny *Asaia* spp. byly kultivovány v Sabouraudově bujónu se 4,0 hm. % glukózy (Merck KGaA, DEU) (dále jen bujón SB) (pH 5,6), který byl zaočkován (inokulum 1,0 obj. %) suspenzí buněk konkrétních kmenů. Kmeny byly aerobně kultivovány při teplotě 30 °C, po dobu 48 h. Po kultivacích byly kmeny použity k různým experimentům nebo uchovány v chladničce při teplotě 4 °C. Kmeny byly přeočkovávány (inokulum 1,0 obj. %) 1× za 7 dní do sterilního bujónu SB (10,0 ml).

Stanovení počtu buněk testovaných kmenů

Pro stanovení počtu buněk kmenů *Asaia* spp. byla použita plotnová metoda (ČSN EN ISO 7218, 2008). Tomuto stanovení předcházela kultivace kmenů v bujónu SB (viz „Kultivace testovaných kmenů“). Následovala vlastní aerobní kultivace kmenů na povrchu Sabouraudově agaru se 4,0 hm. % glukózy (Merck KGaA, DEU) (dále jen agar SA) (inokulum 100 µl, technika roztěru), při teplotě 30 °C, po dobu 72 h. Poté byly spočítány narostlé kolonie a byl proveden výpočet počtu buněk jednotlivých kmenů.

Identifikace testovaných kmenů na úroveň druhu

U testovaných kmenů *Asaia* spp. byla uskutečněna jejich identifikace na úroveň druhu, a to s využitím dvou moderních metod. Jednak s využitím metody sekvenování genu pro 16S rDNA (Středisko sekvenování DNA, MBÚ, AV ČR, v. v. i.), jednak s využitím metody MALDI-TOF MS (Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha). Před vlastní analýzou MALDI-TOF MS bylo zapotřebí uskutečnit extrakční krok se 70% ethanolem a kyselinou mravenčí.

Stanovení produkce biogenních aminů u testovaných kmenů

U testovaných kmenů *Asaia* spp. bylo uskutečněno stanovení produkce biogenních aminů, a to s využitím metody HPLC po derivatizaci s dansylchloridem (Ústav inženýrství ochrany životního prostředí, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně).

VÝSLEDKY

Růstová aktivita kmenů *Asaia* spp.

Růstovou aktivitu testovaných kmenů *Asaia* spp. bylo možné posoudit (mimo jiné) kvantitativně. Výsledky růstové aktivity kmenů *Asaia* spp. jsou uvedeny v Tab. 2 a představují průměr ze dvou uskutečněných paralelních stanovení.

Tab. 2: Růstová aktivita testovaných kmenů *Asaia* spp.; aerobní kultivace kmenů na agaru SA, při teplotě 30 °C, po 72 h aerobních kultur (po předchozích aerobních kulturách kmenů v bujónu SB, při teplotě 30 °C, během 48 h)

Bakteriální kmen	Počet buněk (KTJ·ml ⁻¹)
<i>Asaia krungthepensis</i> CCM 7333 ^T	1,2 · 10 ⁸
<i>Asaia siamensis</i> CCM 7132 ^T	1,0 · 10 ⁸
<i>Asaia lannensis</i> BCC 15734	9,1 · 10 ⁸
<i>Asaia lannensis</i> 3	7,2 · 10 ⁸
<i>Asaia lannensis</i> 8	1,0 · 10 ⁸
<i>Asaia lannensis</i> 9	2,4 · 10 ⁸
<i>Asaia lannensis</i> 10	2,2 · 10 ⁸
<i>Asaia lannensis</i> 11	2,8 · 10 ⁸
<i>Asaia lannensis</i> 12	2,4 · 10 ⁸
<i>Asaia lannensis</i> 15A	4,6 · 10 ⁸
<i>Asaia lannensis</i> 15B	1,1 · 10 ⁸
<i>Asaia lannensis</i> 15C	3,1 · 10 ⁸
<i>Asaia lannensis</i> 15D	1,9 · 10 ⁸
<i>Asaia lannensis</i> 15E	2,6 · 10 ⁸

Na základě zjištěných výsledků prezentovaných v Tab. 2 bylo konstatováno, že testované izoláty *Asaia lannensis* rostly dobře na agaru SA, při teplotě 30 °C, kde po 72 h aerobních kultur dosahovaly vysokých počtů buněk v řádu 10⁸ KTJ·ml⁻¹.

Identifikace kmenů *Asaia* spp.

Pro identifikaci 11 izolátů *Asaia* spp. (3, 8, 9, 10, 11, 12, 15A, 15B, 15C, 15D, 15E) na úrovni druhu byla použita metoda sekvenování genu kódujícího syntézu 16S rDNA, a také metoda MALDI-TOF MS.

Z výsledků identifikace kmenů *Asaia* spp. pomocí metody sekvenování genu kódujícího syntézu 16S rRNA vyplynulo, že všechny izoláty byly identifikovány jako druh *Asaia lannensis*, a to při minimální shodě 99,0 % sekvenovaného úseku 16S rDNA se sekvencemi v dostupných databázích. Sekvenování úseku 16S rRNA, dlouhého 950 nukleotidů, poskytlo spolehlivé výsledky pro sbírkový kmen *Asaia lannensis* BCC 15734 a všech 11 izolátů *Asaia lannensis*. V případě dvou sbírkových kmenů *Asaia krungthepensis* CCM 7333^T a *Asaia siamensis* CCM 7132^T však bylo potřeba sekvenovat úsek 16S rDNA delší, a to až 1500 nukleotidů.

Z výsledků identifikace neznámých izolátů *Asaia* spp. pomocí metody MALDI-TOF MS vyplynulo, že proteinová spektra všech izolátů byla přiřazena k druhu *Asaia lannensis*, s průměrným skóre podobnosti v rozmezí hodnot 2,608–2,729, které charakterizovalo vysoce pravděpodobnou identifikaci bakterií na úroveň druhu (+++).

Produkce biogenních aminů u *Asaia* spp.

U testovaných kmenů *Asaia* spp. bylo uskutečněno zjištění produkce biogenních aminů, a to s využitím metody HPLC po derivatizaci s dansylchloridem. Konkrétně se jednalo o zjištění nejčastěji produkovaného biogenního aminu, a také o zjištění celkové produkce biogenních aminů. V následující Tab. 3 jsou uvedeny výsledky produkce biogenních aminů u testovaných kmenů *Asaia* spp., které představují průměr ze dvou uskutečněných měření.

Tab. 3: Produkce biogenních aminů u testovaných kmenů *Asaia* spp., s využitím metody HPLC po derivatizaci s dansylchloridem

Bakteriální kmen	Nejčastěji produkováný biogenní amin (mg·l ⁻¹)	Celková produkce biogenních aminů (mg·l ⁻¹)
<i>Asaia krungthepensis</i> CCM 7333 ^T	Spermin: 5,7	8,0
<i>Asaia siamensis</i> CCM 7132 ^T	Spermin: 9,9	19,8
<i>Asaia lannensis</i> BCC 15734	ND	ND
<i>Asaia lannensis</i> 3	Spermin: 10,5	13,0
<i>Asaia lannensis</i> 8	Spermin: 7,2	7,2
<i>Asaia lannensis</i> 9	Spermin: 1,2	4,6
<i>Asaia lannensis</i> 10	Spermin: 6,9	14,0
<i>Asaia lannensis</i> 11	Spermin: ND	2,2
<i>Asaia lannensis</i> 12	Putrescin: 785,3	824,2
<i>Asaia lannensis</i> 15A	Spermin: 11,4	14,2
<i>Asaia lannensis</i> 15B	BD	BD
<i>Asaia lannensis</i> 15C	BD	BD
<i>Asaia lannensis</i> 15D	Spermin: 2,6	9,7
<i>Asaia lannensis</i> 15E	Spermin: 10,0	10,9

ND... nedetekováno (zjištěné hodnoty se pohybovaly pod detekčním limitem), BD... budoucí detekce

Z výsledků v Tab. 3 je patrné, že testované izoláty *Asaia lannensis* produkovaly biogenní aminy v širokém rozmezí hodnot 2,2–842,2 mg·l⁻¹ (šlo o celkovou produkci biogenních aminů). Kmeny nejčastěji produkovaly amin spermin. Nejvyšší množství biogenních aminů produkoval izolát *Asaia lannensis* 12, a to 824,2 mg·l⁻¹ (šlo o celkovou produkci biogenních aminů). Z tohoto množství tento kmen produkoval nejvíce aminu putrescinu, a to 785,3 mg·l⁻¹. Zjištění produkce biogenních aminů u kmenů *Asaia lannensis* 15B a *Asaia lannensis* 15C bude předmětem experimentálního zájmu v budoucnu.

Primární výsledky této práce mohou napomoci ve strategii kontroly produkce biogenních aminů u *Asaia* spp., resp. i u jiných octových bakterií, které vykazují bohatou fermentační aktivitu.

ZÁVĚR

U 11 průmyslových izolátů *Asaia lannensis* bylo zjištěno následující. Testované izoláty rostly dobře na agaru SB, při teplotě 30 °C, kde po 72 h aerobních kultivací dosahovaly vysokých počtů buněk v řádu 10⁸ KTJ·ml⁻¹, s využitím plotnové metody.

Všechny izoláty byly identifikovány jako druh *Asaia lannensis* se shodou minimálně 99,0 % pomocí metody sekvenování genu kódujícího 16S rDNA. Tyto izoláty byly též identifikovány na spolehlivé úrovni druhu jako *Asaia lannensis* s využitím metody MALDI-TOF MS.

Izoláty produkovaly 8 biogenních aminů (fenylethylamin, histamin, kadaverin, putrescin, spermidin, spermin, tryptamin, tyramin) o koncentracích v rozmezí hodnot 2,2–824,2 mg·l⁻¹ (šlo o hodnoty celkových produkcí biogenních aminů), s využitím metody HPLC po derivatizaci s dansylchloridem. Nejvyšší množství biogenních aminů 824,2 mg·l⁻¹ (šlo o celkovou produkci biogenních aminů) produkoval izolát *Asaia lannensis* 12. Z tohoto množství kmen produkoval nejvíce putrescinu, a to 785,3 mg·l⁻¹.

Výsledky této práce mohou být využity v průmyslových výrobnách nealkoholických nápojů, a to ve směru jištění zdravotní mikrobiologické i chemické bezpečnosti finálních výrobků, při cílené eliminaci nežádoucích bakterií *Asaia lannensis*.

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", s dobou řešení projektu: 02/2017–12/2021.

LITERATURA

Antolak, H.; Czyzowska, A.; Kregiel, D. Black currant (*Ribes nigrum* L.) and bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruit juices inhibit adhesion of *Asaia* spp. BioMed Research International, [online] **2016**, vol. 2016, [cit. 16. 2. 2022]. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/3671306/>

Bassene, H.; Niang, E. H. A.; Fenollar, F.; Doucoure, S.; Faye, O.; Raoult, D.; Sokhna, C.; Mediannikov, O. Phylogenomics reveals that *Asaia* symbionts from insects underwent convergent genome reduction, preserving an insecticide-degrading gene. Scientific Report, **2020**, 10(1), 1–10.

ČSN EN ISO 7218. Mikrobiologie potravin a krmiv – Všeobecné požadavky a doporučení pro mikrobiální zkoušení. Praha: Český normalizační institut, **2008**, 68.

Epis, S.; Gaibani, P.; Ulissi, U.; Chouaia, B.; Ricci, I.; Damiani, C.; Sambri, V.; Castelli, F.; Buelli, F.; Daffonchio, D.; Bandi, C.; Favia, G. Do mosquito-associated bacteria of the genus *Asaia* circulate in humans? *European Journal of Clinical Microbiological and Infectious Diseases*, **2012**, 31(6), 1137–1140.

Grogan, C.; Bennett, M.; Moore, S.; Lampe, D. *Frontiers in Microbiology*, **2021**, 12, 633–667.

Kregiel, D.; James, S. A.; Rygala, A.; Berłowska, J.; Antolak, H.; Pawlikowska, E. Consortia formed by yeasts and acetic acid bacteria *Asaia* spp. in soft drinks. *Antonie van Leeuwenhoek*, **2018**, 111, 373–383.

Mah, J.-H., Park, Y. K.; Jin, Y. H.; Lee, J.-H.; Hwang, H.-J. Bacterial production and control of biogenic amines in Asian fermented soybean foods. *Foods*, **2019**, 8 (85), 1–15.

Qiu, X.; Zhang, Y.; Hong, H. Classification of acetic acid bacteria and their acid resistant mechanism. *AMB Express*, **2021**, 11(1), 29–44.

Samaddar, N.; Paul, A.; Chakravorty, S.; Chakraborty, W.; Mukherjee, J.; Chowdhuri, D.; Gachhui, R. Nitrogen fixation in *Asaia* sp. (Family Acetobacteraceae). *Current Microbiology*, **2011**, 63, 226–231.

Kontaktní adresa

Ing. Eva Šviráková, Ph.D., Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3/5, 166 28 Praha 6 – Dejvice, Česká republika, e-mail: eva.svirakova@vscht.cz

Fortifikace syrovátkového nápoje kyselinou listovou***Fortification of whey drink with folic acid*****Adam Tobolka, Pavel Čákarov, Aleš Rajchl**

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

Souhrn

Kyselina listová je vitamínem, který významně přispívá ke správnému prenatálnímu vývoji plodu a k prevenci vzniku defektů a abnormalit během vývoje plodu. Vzhledem k nedostatečnému příjmu tohoto vitamínu zejména v těhotenství je zapotřebí kyselinu listovou suplementovat. Byly připraveny modelové vzorky syrovátkových nápojů o rozdílném pH (5,0; 5,5 a 6,0) s přidavkem ovocné složky (jahoda, acerola, aronie a červený rybíz), následně fortifikovány kyselinou listovou, jež byly skladovány 4 týdny při různých teplotách (30, 40 a 50 °C). Byl zhodnocen potenciální protektivní účinek látek s antioxidační kapacitou obsažených v ovocném podílu na zpomalení degradace kyseliny listové. Bylo zjištěno, že kyselina listová degraduje nejrychleji během skladování při teplotě 50 °C a pH = 5,5. Z experimentu vyplývá, že přídavek ovocné složky naopak zrychluje degradaci kyseliny listové v syrovátkovém nápoji, než bylo očekáváno.

Summary

Folic acid is a vitamin that contributes significantly to the proper prenatal development of the foetus and to the prevention of defects and abnormalities during foetal development. Due to insufficient intake of this vitamin, especially during pregnancy, folic acid needs to be supplemented. Model samples of whey drinks with different pH (5,0, 5,5 and 6,0) were prepared with the addition of a fruit component (strawberry, acerola, aronia and redcurrant), subsequently fortified with folic acid, which were stored for 4 weeks at different temperatures (30, 40 and 50 °C). The potential protective effect of substances with antioxidant capacity contained in the fruit component on slowing down the degradation of folic acid was evaluated. Folic acid was found to degrade most rapidly during storage at 50 °C and pH = 5.5. The experiment shows that the addition of a fruit component, on the other hand, accelerates the degradation of folic acid in the whey beverage than expected.

Klíčová slova: kyselina listová; syrovátka; HPLC/DAD; zrychlený skladovací test

Úvod do řešené problematiky

Ačkoli je nedostatečný příjem mikroživin spojován zejména s rozvojovými zeměmi, ve vyspělých zemích je tento problém též velmi rozšířený [1]. Kromě tří nejběžněji se vyskytujících mikroživin s nedostatečným příjmem tj. železa, jódu a vitamínu A [1], je kyselina listová vitamínem, který si celosvětově získává velkou pozornost [2–4]. Významná role tohoto vitamínu spočívá v potenciální schopnosti prevence vzniku abnormalit v raném embryonálním vývoji mozku a míchy plodu [5]. Je známo, že obohacení stravy kyselinou listovou snižuje riziko vzniku defektů neurální trubice u potomků [6–8].

Folacin (B₉) je ve vodě rozpustný vitamín, přičemž toto označení zahrnuje přirozeně se vyskytující foláty v potravinách, a také syntetickou formu folátu, kyselinu listovou. Základní strukturu tohoto vitamínu tvoří pteridinový cyklus vázaný na *p*-aminobenzoovou kyselinu a na její karboxylovou skupinu je amidovou vazbou navázán jeden nebo více zbytků aminokyseliny L-glutamové [9,10]. Přirozeně se vyskytující foláty postrádají stabilitu při skladování a zpracování potravin [11]. Syntetická kyselina listová je stabilní, a proto se hojně využívá v doplňcích stravy a k fortifikaci potravin [12–14]. Volná kyselina listová je jen omezeně rozpustná ve vodě (0,01 g/l při 0 °C) a ve vodných roztocích pod pH = 5 [15]. Rozpustnost kyseliny listové je v kyselém prostředí relativně nízká a významně vyšší je v bazických roztocích [16]. Bylo zjištěno, že foláty se velmi snadno rozkládají a jsou vysoce citlivé na některé fyzikální vlivy prostředí, jako je teplo, UV/Vis záření a přístup kyslíku [17]. Syntetická forma vitamínu B₉ tj. kyselina listová je termostabilní až do 180 °C, avšak podléhá rozkladu působením UV záření [18]. Přirozeně se vitamín B₉ vyskytuje v listové zelenině a některých druzích ovoce. Z živočišných produktů je vitamín B₉ nejvíce zastoupen v játrech a kvasnicích [19].

Biologická dostupnost a využitelnost přirozeně se vyskytujícího folátu je nižší než u kyseliny listové. Rozdíl v jejich biologické dostupnosti a využitelnosti v organismu je částečně způsoben tím, že kyselina listová je přímo absorbována v organismu, zatímco foláty v potravinách (nejčastěji polyglutamáty) musí být nejdříve hydrolyticky rozštěpeny enzymem dekonjugázou ve střevech na monoglutamylové formy [20]. Foláty působí jako koenzymy reakcí umožňující přenos jednouhlíkových funkčních skupin, které vedou k syntéze komponent DNA, RNA a proteinů [20,21].

V Evropské unii (EU) je doporučený denní příjem folacinu stanoven dle European Food Safety Authority (EFSA). Referenční příjem folacinu pro dospělé osoby je 200 až 400 µg/den. Pro těhotné a kojící ženy je doporučován zvýšený příjem 600 µg/den, dokonce se doporučuje až 1000 µg/den pro správný a bezproblémový průběh laktace [22]. Avšak příjem folacinu přesahující 1 mg/den zvyšuje riziko maskování nedostatečného příjmu vitamínu B₁₂. Doporučení pro děti jsou extrapolována z doporučeného příjmu folacinu pro dospělé na základě tělesné hmotnosti a pohybují se od 200 µg/den do 400 µg/den [22,23].

Syrovátka je zbytková tekutina po srážení mléka za účelem výroby sýra nebo uvolněná tekutina po fermentaci jiných mléčných výrobků nejčastěji jogurtů nebo jogurtů řeckého typu. Po koagulaci mléka enzymatickým syřidlem při výrobě sýrů vzniká sladká

syrovátka, zatímco použitím kyseliny mléčné při výrobě tvarohu se uvolňuje kyselá syrovátka. Tyto dva typy se mírně liší svým složením [24]. Zatímco oba typy se většinou skládají z vody, laktózy, bílkovin, minerálních látek a tuků, kyselá syrovátka obsahuje více minerálních látek (zejména vápníku), ale méně bílkovin a laktózy než sladká syrovátka [25]. Laktóza tvoří více než 75 % z celkových pevných látek v sušině syrovátky, což je hlavním důvodem, proč je syrovátka považována za jeden z nejvíce znečišťujících vedlejších produktů v potravinářské výrobě. Naproti tomu obsažené proteiny a peptidy (zejména α -laktalbumin, β -laktoglobulin, sérový albumin a imunoglobuliny) mají výjimečnou biologickou a funkční hodnotu, a proto nabízejí širokou škálu využití syrovátky [26,27].

Syrovátkové nápoje jsou vyrobeny ze syrovátky, která byla ošetřena ultrafiltrací. Takto upravená syrovátka se dále tepelně ošetřuje (při teplotě 90-95 °C po dobu 5 minut), aby proběhla denaturace syrovátkových proteinů a syrovátka byla zároveň dostatečně pasterována. Syrovátku je také potřeba homogenizovat, aby se dosáhlo průměrné velikosti částic syrovátkového proteinu, tak aby se zabránilo zrnitosti a zvýšila jemnost koncentráту. Do takto upravené syrovátky se pak přidávají přísady a suroviny, jako je ovocná šťáva, sacharóza nebo aroma. Následně se tato směs zahřeje na požadovanou teplotu. Při výrobě nefermentovaných nápojů se tato teplota pohybuje kolem 72 °C. Při výrobě kvašených nápojů se tato teplota pohybuje kolem 25 °C, v tomto okamžiku je syrovátková směs naočkována mikroorganismy a následně ponechána fermentačním procesům. Hotové syrovátkové nápoje, ať už fermentované nebo nekvašené jsou ochlazeny, poté baleny a skladovány [28].

Experimentální část

Hlavním cílem práce bylo zhodnotit stabilitu kyseliny listové s ohledem na přídavek různých ovocných složek s antioxidační kapacitou a pro tento účel byla vyvinuta série syrovátkových nápojů fortifikovaných kyselinou listovou. Byl proveden zrychlený skladovací test (4 týdny), kdy fortifikované syrovátkové nápoje byly uloženy do termostátů při různých teplotách 30, 40 a 50 °C.

Příprava syrovátkového nápoje

K přípravě syrovátkového nápoje (100 mL) byla použita třikrát zahuštěná sladká syrovátka a čtyři různé ovocné složky. Konkrétně byly zvoleny jahody, červený rybíz, arónie a acerola. Zahuštěná syrovátka byla naředěna do původní koncentrace a fortifikována na koncentrační hladině kyseliny listové 6 mg/L a obohacena 5 % jahodové, respektive rybízové šťávy a 1 g aceroly, respektive arónie (dehydratovaný stav suroviny - prášek celého plodu). Následovala úprava pH syrovátkového nápoje pomocí 0,1 M (mol/L) kyseliny chlorovodíkové (HCl) na hodnoty 5,0; 5,5 a 6,0. Takto připravené vzorky byly pasterovány po dobu 30 minut při 63,5 °C, kdy byl pomocí systému Ellab hodnocen termoinaktivační účinek.

Příprava analytického vzorku ke stanovení kyseliny listové pomocí metody HPLC/DAD

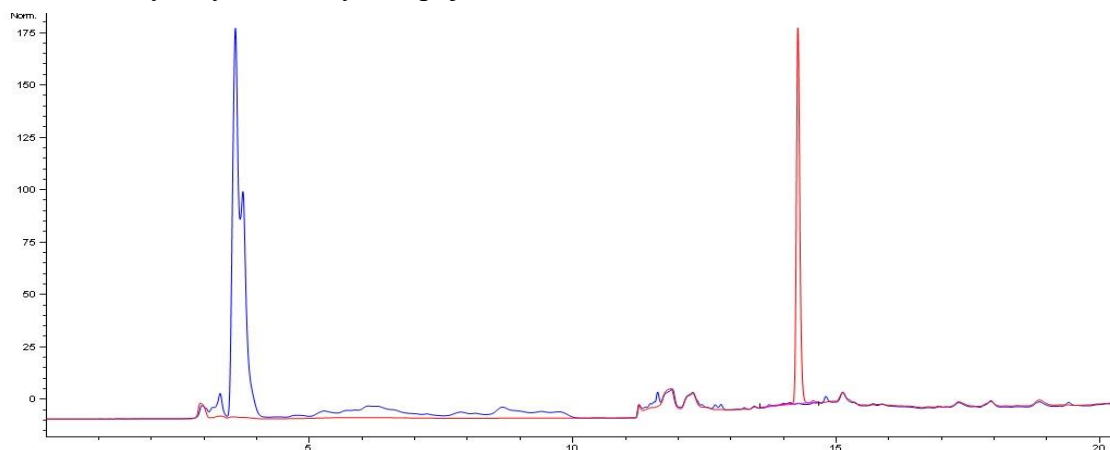
Z připraveného syrovátkového nápoje se odebere 10 mL do 100 mL odměrné baňky a přidá se 4 mL 2 M hydroxidu sodného (NaOH), 40 mL fosfátové pufru pH = 5,5 (1 M HNa_2PO_4 + 1 M H_2NaPO_4) a doplní se destilovanou vodou po rysku. Následně se vzorek zfiltruje přes nylonový mikrofiltr s porozitou 0,45 μm do vialek a takto připravený vzorek se použije k analýze kyseliny listové pomocí metody HPLC/DAD. Analytická metoda HPLC/DAD byla validována v rámci našich laboratorních podmínek.

Analytická metoda HPLC/DAD pro stanovení koncentrace kyseliny listové

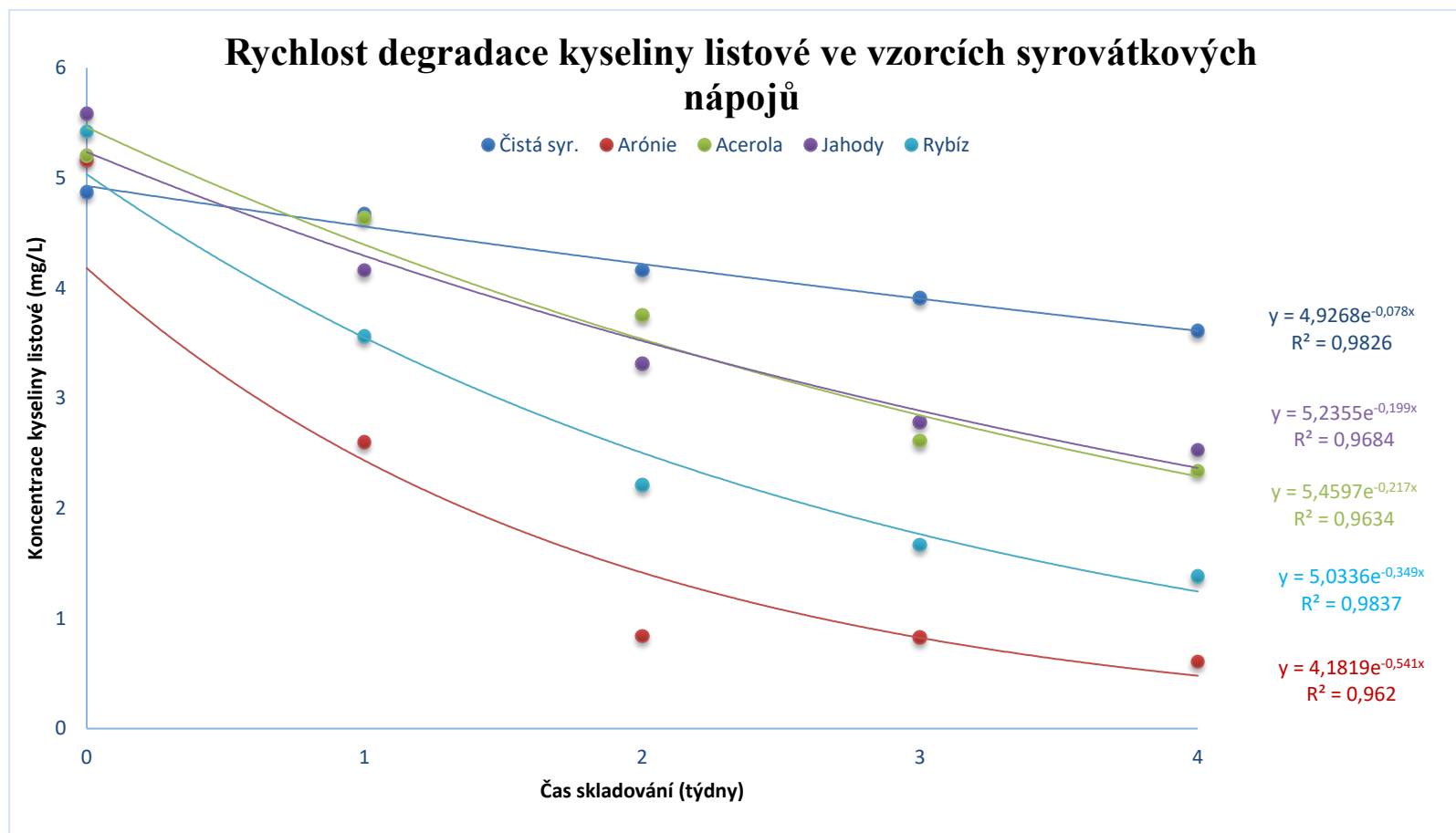
K analýze kyseliny listové byl použit kapalinový chromatograf Agilent 1260. Stacionární fáze byla oktadecylová (C18), kolona Eclipse Plus (250 $\times$ 4,6 mm; 5 μm) a mobilní fáze sestávala z 0,025% trifluoroctové kyseliny ve vodě (roztok A) a acetonitrilu (roztok B). Objemový průtok mobilní fáze byl 0,8 mL/min. Teplota na koloně byla 20 °C a celková doba analýzy činila 30 minut. Množství nastříkovaného vzorku bylo 5 μL . K eluci analytu ze stacionární fáze byla použita gradientová eluce mobilní fáze s následujícím nastavením: 0-5 min 100 % A; 5-11 min 75 % A; 11-19 min 60 % A; 19-20 min 60 % A; 20-25 min 100 % A; 25-30 min 100 % A. Kyselina listová byla detekována při 282 nm.

Výsledky a diskuse

Byla provedena validace metody HPLC/DAD pro stanovení kyseliny listové ve vzorcích syrovátkových nápojů. Validačními parametry byly limit detekce (LOD), limit kvantifikace (LOQ), linearita metody a opakovatelnost. LOD, respektive LOQ byly vypočteny jako trojnásobek, respektive desetinásobek výšky šumu ke směrnici kalibrační přímky. Hodnota LOD byla 0,0058 mg/L a pro LOQ byla hodnota 0,0192 mg/L. Linearita metody byla určena z kalibrační křivky a hodnota koncentrace kyseliny listové byla stanovena od 0,1 do 200 mg/L. Opakovatelnost byla vyjádřena jako relativní směrodatná odchylka pro pět identických vzorků ($n = 5$) a hodnota činila 0,49 %. Pro ilustraci je na **Obrázek 8** uveden chromatogram zobrazující porovnání standardu kyseliny listové s fortifikovaným syrovátkovým nápojem.



Obrázek 8: Chromatogram fortifikovaného syrovátkového nápoje (600 $\mu\text{g/L}$) proložen standardem kyseliny listové o stejné látkové koncentraci (červená křivka)



Obrázek 9: Degradace kyseliny listové v syrovátkových nápojích během skladování při 50 °C a pH = 5,5

Z provedeného experimentu vyplývá, že při teplotě 50 °C a pH = 5,5 kyselina listová degradovala nejrychleji. Dále jednoznačně vyplývají rozdíly mezi vzorkem obohaceným o arónii a ostatními ovocnými složkami, kde rychlost degradace kyseliny listové byla nejvýraznější. Koncentrace kyseliny listové klesá v nápojích exponenciálně. Z **Obrázek 9** je patrné, že dochází k výraznému poklesu koncentrace kyseliny listové u vzorků obsahujících přídavek ovocné složky, což je v rozporu s očekáváním, že ovocná složka s antioxidační kapacitou bude naopak degradaci kyseliny listové v syrovátkovém nápoji zpomalovat. Dle odborných publikací má vitamín C protektivní účinky proti oxidaci a degradaci kyseliny listové [29,30]. Z ovocných složek přidaných do syrovátkového nápoje se nejlépe jeví acerola (sušený prášek celého plodu) a jahodová dřev s ohledem na potenciální zpomalení degradace kyseliny listové v kyselém prostředí během skladování, což bylo v souladu s uvedenou literaturou, jelikož tyto ovocné složky obsahují vitamín C ve velmi vysokých koncentracích.

Závěr

V experimentální části byly připraveny syrovátkové nápoje fortifikované kyselinou listovou s přídatkem čtyř různých ovocných složek s antioxidační kapacitou. Pro zrychlený skladovací test byly zvoleny tři různé hodnoty pH (5,0; 5,5 a 6,0) a tři odlišné teploty skladování (30, 40 a 50 °C). Bylo zjištěno, že nejrychleji kyselina listová degraduje při pH = 5,5 a teplotě 50 °C. Pro stanovení koncentrace kyseliny listové byla validována metoda HPLC/DAD. Během skladování syrovátkových nápojů při různých teplotách a pH docházelo k exponenciálnímu poklesu koncentrace kyseliny listové. Po dvou týdnech skladování syrovátkového nápoje bylo zjištěno, že požitím 100 mL fortifikovaného nápoje, dospělý člověk splní doporučenou denní dávku kyseliny listové (200 µg/den). Vzhledem k tomu, že dochází k výraznému úbytku kyseliny listové z původního přídatku, bylo by zapotřebí hledat cesty ke stabilizaci kyseliny listové v kyselém prostředí. Byl pozorován statisticky významný rozdíl v rychlosti degradace kyseliny listové ve vzorcích obsahující přídavek arónie od ostatních ovocných složek přidaných do syrovátkového nápoje, kde byl zaznamenán největší úbytek kyseliny listové. Naopak u vzorků obsahujících acerolu a jahodovou dřev byla degradace kyseliny listové méně výrazná a vzorků s čistou syrovátkou bez přídatku ovocné složky byla degradace kyseliny listové nejméně výrazná. Z výsledného experimentu vyplývá, že přídavek ovocné složky naopak zrychluje degradaci kyseliny listové v syrovátkovém nápoji.

Poděkování: Projekt byl podpořen z „Programu aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství na období 2017-2025: ZEMĚ“ č. QK1910100 Vliv reformulace na trvanlivost a fyzikálně-chemické vlastnosti potravinářských výrobků.

Použitá literatura:

- [1] L. Allen, B. de Benoist, O. Dary, and R. Hurrell, "Guidelines on Food Fortification With Micronutrients," *Who, Fao Un*, p. 341, 2006.
- [2] M. A. Honein, L. J. Paulozzi, T. J. Mathews, J. D. Erickson, and L. Y. C. Wong, "Impact of folic acid fortification of the US food supply on the occurrence of neural tube defects," *Journal of the American Medical Directors Association*, vol. 285, no. 23, pp. 2981–2986, 2001.
- [3] P. F. Jacques, J. Selhub, A. G. Bostom, P. W. F. Wilson, and I. H. Rosenberg, "The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations," *The New England Journal of Medicine*, vol. 340, no. 19, pp. 1449–1454, May 1999.
- [4] J. G. Ray, "Folic acid food fortification in Canada," in *Nutrition Reviews*, 2004, vol. 62, no. 6 I.
- [5] A. E. Czeizel and I. Dudás, "Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation," *Obstetrical & Gynecological Survey*, vol. 48, no. 6, pp. 395–397, 1993.
- [6] P. De Wals *et al.*, "Reduction in neural-tube defects after folic acid fortification in Canada," *The New England Journal of Medicine*, vol. 357, no. 2, pp. 135–142, Jul. 2007.
- [7] R. M. Pitkin, "Folate and neural tube defects," in *American Journal of Clinical Nutrition*, 2007, vol. 85, no. 1, pp. 285S–288S.
- [8] M. J. Rieder, "Prevention of neural tube defects with periconceptional folic acid," *Clinics in Perinatology*, vol. 21, no. 3, pp. 483–503, 1994.
- [9] EFSA, "ESCO Report on Analysis of Risks and Benefits of Fortification of Food with Folic Acid," *EFSA Supporting Publications*, vol. 6, no. 8, Mar. 2017.
- [10] J. Velíšek and J. Hajšlová, *Chemie potravin I*. Tábor: OSSIS, 2009.
- [11] K. S. Crider, L. B. Bailey, and R. J. Berry, "Folic acid food fortification-its history, effect, concerns, and future directions," *Nutrients*, vol. 3, no. 3, MDPI AG, pp. 370–384, 2011.
- [12] E. Reynolds and M. Sillender, "Fortification of flour with folic acid," *British Medical Journal*, vol. 324, no. 7342, p. 918, 15-Mar-2002.
- [13] J. D. O'Broin, I. J. Temperley, J. P. Brown, and J. M. Scott, "Nutritional stability of various naturally occurring monoglutamate derivatives of folic acid," *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 28, no. 5, pp. 438–444, May 1975.
- [14] R. Eitenmiller and W. Landen, *Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences*. CRC Press, 1998.
- [15] E. Wood, "Data for Biochemical Research (third edition)," *Biochemical Education*, vol. 15, no. 2, p. 97, Apr. 1987.
- [16] I. R. Younis, M. K. Stamatakis, P. S. Callery, and P. J. Meyer-Stout, "Influence of pH on the dissolution of folic acid supplements," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 367, no. 1–2, pp. 97–102, Feb. 2009.
- [17] M. K. Off *et al.*, "Ultraviolet photodegradation of folic acid," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 80, no. 1, pp. 47–55, Jul. 2005.

- [18] A. M. Gazzali *et al.*, “Stability of folic acid under several parameters,” *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 93. Elsevier B.V., pp. 419–430, 10-Oct-2016.
- [19] IOM, *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline*. National Academies Press, 1998.
- [20] A. D. Smith, Y. I. Kim, and H. Refsum, “Is folic acid good for everyone?,” *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 87, no. 3. pp. 517–533, 01-Mar-2008.
- [21] S.-W. Choi and J. B. Mason, “Trans-HHS Workshop : Diet , DNA Methylation Processes and Health Folate Status : Effects on Pathways of Colorectal Carcinogenesis 1 , 2,” *The American Society for Nutritional Sciences*, pp. 2413–2418, 2002.
- [22] “Scientific Opinion on Dietary Reference Values for folate,” *EFSA Journal*, vol. 12, no. 11, Nov. 2016.
- [23] EFSA, “ESCO Report on Analysis of Risks and Benefits of Fortification of Food with Folic Acid,” *EFSA Supporting Publications*, vol. 6, no. 8, Mar. 2017.
- [24] Y. Karagül-Yüceer, M. A. Drake, and K. R. Cadwallader, “Aroma-active components of liquid cheddar whey,” *Journal of Food Science*, vol. 68, no. 4, p. 1215, May 2003.
- [25] Kilara, A. 2015. Whey and Whey Products. In Chandan, R. C., Kilara, A., Shah, N. P. *Dairy Processing and Quality Assurance*. New Jersey, USA : John Wiley & Sons, Ltd, p. 349-366. ISBN: 9781118810279
- [26] G. W. Smithers, “Whey and whey proteins-From ‘gutter-to-gold,” *International Dairy Journal*, vol. 18, no. 7. Elsevier, pp. 695–704, 01-Jul-2008.
- [27] S. Anand, S. N. Khanal, and C. Marella, “Whey and Whey Products,” in *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health*, Oxford: John Wiley & Sons, 2013, pp. 477–497.
- [28] I. Jeličić, R. Božanić, and L. Tratnik, “Whey-based beverages- a new generation of diary products,” *Mljekarstvo*, vol. 58, no. 3, pp. 257–274, 2008.
- [29] P. H. C. J. Verlinde, I. Oey, M. E. Hendrickx, A. M. Van Loey, and E. H. M. Temme, “L-ascorbic acid improves the serum folate response to an oral dose of [6S]-5-methyltetrahydrofolic acid in healthy men,” *Eur. J. Clin. Nutr.*, vol. 62, no. 10, pp. 1224–1230, Jul. 2008.
- [30] X. S. Liang, F. Q. Zhao, and L. X. Hao, “Research on stability of synthetic folic acid,” in *Advanced Materials Research*, 2013, vol. 781–784, pp. 1215–1218.

Kontaktní adresa:

Ing. Adam Tobolka
tobolkaa@vscht.cz

P23

Nezáměrně přidané látky migrující z materiálů pro kontakt s potravinami

Non-intentionally added substances migrating from food contact materials

**Lukáš Vápenka, Michal Mrlík, Simona Sedláčková,
Eliška Václavíková, Lenka Votavová**

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

Práce se zabývala stanovením úrovně migrace nezáměrně přidaných látek (NIAS = non-intentionally added substances) obsažených v materiálech pro kontakt s potravinami, především plastových obalech, do simulantů potravin. Publikovány jsou výsledky migračních zkoušek z obalových materiálů vyrobených z polyethylenu, polypropylenu, polyamidu, polyethylen-tereftalátu do simulantů potravin (95 a 10% ethanol), s cílem identifikovat a stanovit úroveň migrace látek NIAS z těchto materiálů. Identifikace a semikvantifikace byla provedena na plynovém chromatografu s hmotnostním spektrometrem. Celkem bylo analyzováno 56 vzorků materiálů pro kontakt s potravinami, přičemž bylo identifikováno 10 různých látek NIAS. Úrovně migrace těchto látek se pohybovaly od 0,01 do 4,51 mg·kg⁻¹ simulantu potravin. Nejvyšší úroveň migrace byla stanovena pro tris(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfát (4,51 mg·kg⁻¹), který byl zároveň nejčastěji migrující látkou (56 výskytů).

The work dealt with determining the level of migration of non-intentionally added substances (NIAS) contained in food contact materials, especially plastic packaging, into food simulants. The results of migration tests from packaging materials made of polyethylene, polypropylene, polyamide, polyethylene terephthalate into food simulants (95 and 10% ethanol) are published in order to identify and determine the level of NIAS migration from these materials. Identification and semi-quantification were performed on a gas chromatograph with mass spectrometry detection. A total of 56 samples of food contact materials were analysed, identifying 10 different NIASs. Migration levels of these substances ranged from 0.01 to 4.51 mg·kg⁻¹ of food simulant. The highest level of migration was determined for tris(2,4-di-tert-butylphenyl)phosphate (4.51 mg·kg⁻¹), which was also the most frequently migrating substance (56 occurrences).

Klíčová slova: nezáměrně přidané látky, NIAS, materiály pro kontakt s potravinami, migrace

Úvod

Problémem, se kterým se v potravinářském průmyslu setkáváme, je migrace nízkomolekulárních látek z obalových materiálů do potravin. Mezi látky, které mohou migrovat do potravin, patří jak povolené látky, tak látky nepovolené. Některé nepovolené látky mohou být zařazeny do skupiny látek označovaných jako tzv. „nezáměrně přidané látky (NIAS)“ Nejčastěji se jedná o nečistoty v záměrně použitých materiálech a aditivech, meziprodukty reakcí probíhajících během výrobního procesu daného materiálu nebo rozkladné produkty.

Nebezpečí výskytu látek NIAS v obalových materiálech používaných v potravinářském průmyslu stoupá, především se snahami stále více využívat recyklační procesy. U plastových obalových materiálů, na rozdíl od obalů například ze skla, se při výrobním procesu přidává celá řada různorodých aditiv k úpravě jejich vlastností (například UV absorbery, antioxidační činidla, stabilizátory, povrchově aktivní látky atd.). Nadměrné přídavky aditiv mohou být doprovázeny zvýšeným obsahem NIAS v konečném materiálu. Tyto látky NIAS mohou mít potenciál negativně ovlivnit organoleptické vlastnosti balených potravin a také mohou v některých případech představovat zdravotní riziko.

Původ látek NIAS je rozdělen do tří základních skupin: vedlejší produkty, rozkladné produkty a kontaminanty.

Vedlejší produkty

Vedlejší reakce se mohou objevit nejen během výroby výchozích látek, ale také během všech dalších výrobních fází. U mnoha procesů jsou známy hlavní vedlejší produkty. Takové NIAS lze snadno monitorovat nebo jejich tvorbu lze dokonce snížit změnou výrobních parametrů. Vzhledem k vysokému počtu výchozích látek používaných k výrobě obalových materiálů a složitosti výrobních procesů je v současné době nemožná komplexní předpověď všech potenciálních vedlejších produktů objevujících se v konečném produktu. Typickými vedlejšími produkty jsou oligomery vznikající při syntéze polymerů [1].

Rozkladné produkty

Pokud na materiály působí nějaké vnější podmínky (např. vystavení zvýšené teploty, ozařování nebo kontakt s kyslíkem či potravinou), dochází k reakcím, kde vznikají rozkladné produkty, které se také řadí do kategorie NIAS [1].

Kontaminanty

Prvním způsobem, jakým se mohou kontaminující látky objevit v konečném produktu, je přítomnost nečistot. Pro výrobu obalových materiálů jsou používány jako výchozí látky polymery, přísady a další materiály (např. rozpouštědla). Každá z těchto látek použitých k výrobě často obsahuje nečistoty, protože jsou používány v čistotě technické. Hlavní nečistoty jsou obecně známy a jsou kontrolovány výrobcem, zatímco drobné nečistoty jsou často neznámé.

Druhým způsobem je vznik kontaminujících látek během procesu výroby. Typickými chemikáliemi, které mohou během výroby kontaminovat materiály, jsou čisticí prostředky, biocidy, maziva nebo zbytky z předchozích šarží. Na rozdíl od jiných typů kontaminantů lze takový NIAS snadno identifikovat a vyvarovat se tomuto typu kontaminace [1].

Poslední možností je kontaminace související s recyklovanou surovinou. Recyklované materiály jsou součástí oběhového hospodářství, s čímž je spojena vysoká možnost kontaminace NIAS. Do recyklovaného produktu se dostanou nepotravinářské materiály, nekompatibilní materiály, které je nemožné oddělit (např. lepidla, nátěry), nové látky vznikající při procesu recyklace nebo materiály, které během recyklace mohou měnit vlastnosti a vytvářet rozkladné produkty. Látky NIAS jsou často špatně odstranitelné, proto jejich koncentrace může s množstvím recyklačních cyklů narůstat. Výsledné, často nedefinované směsi chemických látek, které jsou přítomny během recyklace, mohou reagovat a tvořit další látky, které rozšiřují seznam potenciálních NIAS. Kromě toho může dojít k hromadění chemikálií, v případě že jsou materiály několikrát recyklovány [2].

Testované materiály

Testovanými materiály byly:

- fólie vyrobené z polyethylenu nízké hustoty (LDPE) s různými povrchovými úpravami (metallocenová, vodivostní vrstva atd.) i bez nich s tloušťkou od 30 do 150 μm ,
- vícevrstvé fólie s vnitřní vrstvou vyrobené na bázi polyolefinů (PP, LDPE)
- víčka vyrobené z polypropylenu (PP)
- vědra a kyblíky vyrobené z PP
- tkaniny vyrobené z PP

Testováno bylo celkem 56 vzorků materiálů. K testovaným materiálům byla výrobcí dodána dokumentace s výčtem „záměrně přidávaných aditivních sloučenin (IAS)“ použitých při jejich výrobě.

Migrační zkoušky a analýza NIAS

Migrační zkoušky byly prováděny imerzní a náplňovou (sáčkovou) metodou, případně byla použita migrační cela při požadavku na testování jednostranného kontaktu bez možnosti svaření vzorku. Jako simulanty potravin byly vybrány 95% ethanol (odpařitelná náhrada simulantu potravin D2) a 10% ethanol (simulant potravin A). Teplota zkoušek se pohybovala od 40 do 70 °C po dobu 2 až 240 hodin. Po ukončení migračních zkoušek byly ethanolové extrakty odpařeny na vakuové odparce při teplotě 40 °C do sucha. Odparky byly rozpuštěny ve 2 ml isopropanolového roztoku vnitřních standardů (n-tridekan, 4,4'-difluorbifenyl, 3-terc-butyl-4-hydroxyanisol a 2-ethylhexyl-difenyl fosfát, každý o koncentraci 10 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) a přefiltrovány přes nylonové stříkačkové mikrofiltry do vialek a připraveny tak pro GC-MS analýzu. GC-MS analýza byla provedena za těchto podmínek: energie elektronové ionizace 70 eV, teplota 280 °C; kapilární kolona DB-5ms s předkolonou (deaktivovaný oxid křemičitý); mobilní fáze –

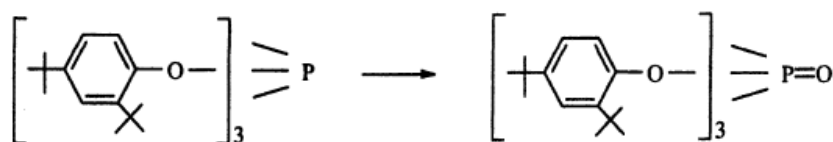
helium, průtok 1,0 ml·ml⁻¹, lineární rychlost 36,0 cm·s⁻¹; nástřik vzorku – splitless, teplota nástřiku 290 °C; teplotní program pece – začátek 60 °C po dobu 5 minut, nárůst rychlostí 10 °C·min⁻¹ na 325 °C a výdrž při této teplotě po dobu 20 minut. Identifikace látek NIAS byla provedena pomocí chromatografického softwaru Agilent ChemStation vybaveného knihovnou hmotnostních spekter NIST14. Semikvantifikace (přibližný odhad migrujících látek NIAS) byla provedena pomocí čtyř vybraných vnitřních standardů (tridekan, 4,4'-difluorobifenyl, 3-terc-butyl-4-hydroxyanisol a 2-ethylhexyl-difenyl-fosfát).

Výsledky

V následujícím textu jsou uvedeny dvě sloučeniny, které byly po migrační zkoušce v analyzovaných extraktech testovaných vzorků nejčastěji identifikovány a semikvantifikovány.

tris(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfát

Jedná se o nejčastěji se vyskytující látku NIAS, která byla nalezena ve všech testovaných vzorcích. Tris(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfát je degradačním produktem tris(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfitu (známější označení Irgafos 168), viz obrázek 1, který se velmi často používá jako aditivum při výrobě materiálů na bázi polyolefinů. Účelem přídavku této látky je stabilizovat výsledný materiál a minimalizovat jeho oxidační degradaci během výroby a skladování a to především v důsledku působení vnějších podmínek, zejména záření a kyslíku. Stanovené úrovně migrace se u testovaných vzorků pohybovaly od 0,01 do 4,51 mg·kg⁻¹.



Obrázek 1: Vznik degradačního produktu tris-(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfátu z tris-(2,4-di-terc-butylfenyl) fosfitu [3].

2,4-di-terc-butylfenol

Jedná se o druhou nejčastěji se vyskytující látku NIAS, která byla nalezena ve 22 testovaných vzorcích. Tato sloučenina je degradačním produktem předchozí sloučeniny, tj. tris(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfátu. Stanovené úrovně migrace se u testovaných vzorků pohybovaly od 0,01 do 0,32 mg·kg⁻¹.

Výše uvedené látky NIAS (2,4-di-terc-butylfenol a tris(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfát) nejsou klasifikovány jako vysoce škodlivé, ale z hlediska legislativy se jedná o látky neautorizované (neuvedené v pozitivním seznamu látek, tj. látek povolených pro výrobu materiálů pro kontakt s potravinami), u kterých legislativa zavádí princip předběžné opatrnosti a říká, že by se tyto látky neměly do potravin uvolňovat (migrace by měla být

pod limitem detekce, případně lze zvolit jako „univerzální“ limit detekce hodnotu 10 µg/kg) [4]. Tento princip bohužel vůbec neposuzuje samotnou škodlivost či zdravotní nezávadnost těchto látek. Posouzení zdravotní závadnosti nebo nebezpečnosti je pak tedy na každém výrobci či uživateli obalového materiálu, protože každý má jiná kritéria, požadavky atd. Zároveň po určité době mohou být látky, které předtím byly považovány za bezpečné, posuzovány jako nebezpečné. Výhodou pro výrobce obalových materiálů, jakožto uživatelů aditiva Irgafos 168 je to, že k bezpečnosti těchto látek se v roce 2017 vyjádřil Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA). Toto vyjádření je shrnuto v dokumentu zabývajícím se posouzení bezpečnosti látek na bázi esterů kyseliny fosforečné s 2,4-bis(1,1-dimethylpropyl)fenylem a 4-(1,1-dimethylpropyl)fenylem při jejich použití v materiálech přicházejících do styku s potravinami [5]. Dle tohoto posouzení nepředstavují tyto látky zdravotní riziko, pokud je suma migrace fosfitu a fosfátu nižší než 10 mg·kg⁻¹ potraviny nebo simulantu potravin. Zároveň lze pro posouzení bezpečnosti 2,4-di-terc-butylfenolu uplatnit migrační limit 1 mg·kg⁻¹ potraviny nebo simulantu potravin.

V rámci stanovení úrovně migrací NIAS byly stanoveny i úrovně migrace některých aditiv jakožto IAS sloučenin. Mezi těmito látkami byl i Irgafos 168, jehož úroveň migrace byla od 0,04 do 3,67 mg·kg⁻¹. Stanovené úrovně migrace těchto látek ze vzorků testovaných v rámci této práce vyhovují výše uvedeným migračním limitům.

Závěr

Na základě výsledků diskutovaných v této práci lze vyslovit následující závěry.

- Nejčastěji vyskytujícími látkami NIAS byly *tris(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfát* a *2,4-di-terc-butylfenol* vznikající degradací aditiva *tris(2,4-di-terc-butylfenyl)-fosfitu* (Irgafos 168).
- Stanovené úrovně migrace těchto látek nepředstavují zdravotní riziko a vyhovují stanoveným limitům migrace.

Poděkování: *Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt A1_FPBT_2021_004*

Literatura

- [1] Geueke, B.; Groh, K.; Muncke, J., Food packaging in the circular economy: Overview of chemical safety aspects for commonly used materials. *Journal of Cleaner Production* 2018, 193, 491-505.
- [2] Horodytska, O.; Cabanes, A.; Fullana, A., Non-intentionally added substances (NIAS) in recycled plastics. *Chemosphere* 2020, 251, 126373.
- [3] Deschênes, L.; Carlsson, D. J.; Wang, Y.; Labrèche, C. Postirradiation Transformation of Additives in Irradiated HDPE Food Packaging Materials: Case Study of Irgafos 168. *ACS Symposium Series* 2004, 875, 277-289.
- [4] Nařízení Komise (EU) č. 10/2011 ze dne 14. ledna 2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami. *Úřední věstník Evropské unie* 2011, L 12/1.
- [5] EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF), Silano, V, Bolognesi, C, Cravedi, J-P, Engel, K-H, Fowler, P, Franz, R, Grob, K, Gürtler, R, Husøy, T, Kärenlampi, S, Mennes, W, Milana, MR, Penninks, A, Smith, A, Tavares Poças, MF, Tlustos, C, Wölflle, D, Zorn, H, Zugravu, C-A, Kolf-Clauw, M, Lampi, E, Svensson, K, Barthélémy, E and Castle, L, 2017, Scientific

Opinion on the 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. EFSA Journal 15(5):4841.

Kontaktní adresa: vapenkal@vscht.cz

Optimalizace stanovení celkové migrace z materiálů určených pro kontakt s potravinami do simulantu tučných potravin***Optimization of the overall migration test from food contact materials into the fatty food simulant*****Lukáš Vápenka, Michal Mrlík, Eliška Václavíková, Lenka Votavová**Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,
Technická 5, Praha 166 28

Práce se zabývala stanovením celkové migrace z polymerních materiálů do rostlinných olejů jakožto simulantů tučných potravin. Byla vyvinuta nová metoda pro stanovení množství oleje absorbovaného vzorkem. Tato metoda zahrnuje extrakci oleje ze vzorku pomocí n-heptanu v kombinaci s extrakcí ultrazvukem, hydrolyzu a esterifikaci mastných kyselin v alkalickém prostředí. Metoda se ukázala jako vhodná pro stanovení množství oleje absorbovaného ve vzorku u tenkovrstvých obalových materiálů vyrobených z polyethylenu nízké hustoty (LDPE). Chyba metody byla stanovena na hodnotu $3 \pm 2 \%$. Také byl zkoumán vliv použitého druhu rostlinného oleje jako simulantu tučných potravin na hodnotu celkové migrace z LDPE fólie. Byly testovány tři druhy olejů – řepkový, olivový a slunečnicový. Nejvyšší úroveň celkové migrace byla stanovena u řepkového oleje ($11,9 \pm 1,2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$), úroveň celkové migrace do olivového oleje byla nižší ($7,3 \pm 0,7 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$), nejnižší hodnota celkové migrace byla stanovena při migraci do slunečnicového oleje ($2,4 \pm 1,4 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$). Výsledky naznačují, že složení rostlinných olejů významně ovlivňuje hodnotu celkové migrace.

The work dealt with the determination of the overall migration from polymeric materials into vegetable oils as simulants of fatty foods. A new method has been developed to determine the amount of oil absorbed by a sample. This method involves the extraction of oil from a sample with n-heptane in combination with ultrasonic extraction, the hydrolysis and esterification of fatty acids in an alkaline condition. The method has been shown to be suitable for determining the amount of oil absorbed in a sample of thin-film packaging materials made of low-density polyethylene (LDPE). The error of the method was set as $3 \pm 2\%$. The influence of the type of vegetable oil used as a fatty food simulant on the value of the overall migration from the LDPE film was also investigated. Three types of oils were tested - rapeseed, olive and sunflower oil. The highest level of overall migration was determined for rapeseed oil ($11.9 \pm 1.2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$), the level of overall migration to olive oil was lower ($7.3 \pm 0.7 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$), the lowest value of overall migration was determined by migration into sunflower oil ($2.4 \pm 1.4 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$). The results suggest that the composition of vegetable oils significantly affects the value of overall migration.

Klíčová slova: materiály pro kontakt s potravinami, simulant potravin, celková migrace, esterifikace

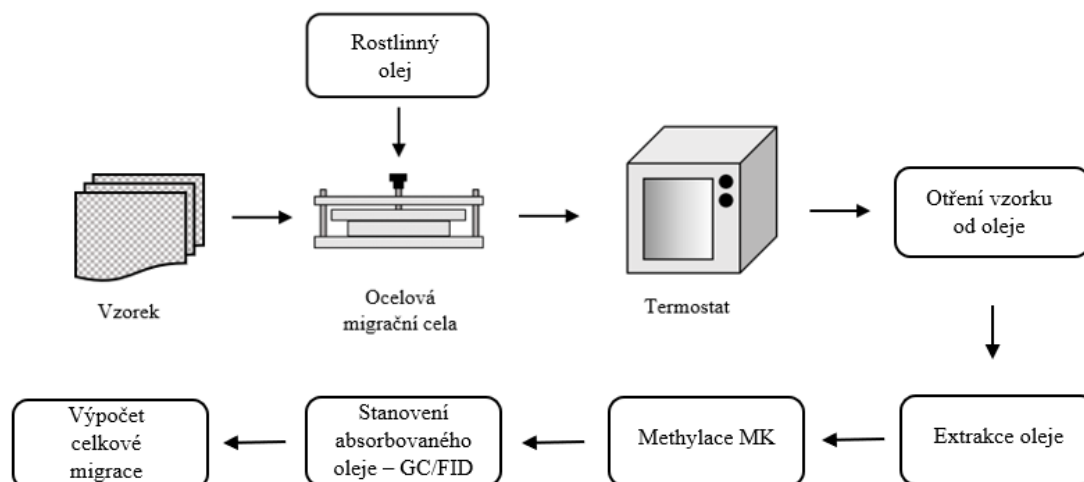
Úvod

Důležitou součástí výroby potravin jsou materiály určené pro styk s potravinami. Při kontaktu těchto materiálů s potravinou může docházet k přestupu látek, které jsou v něm obsaženy. Množství všech těchto migrujících látek je vyjadřováno jako úroveň celkové migrace. Úroveň celkové migrace je sledována u všech materiálů určených pro styk s potravinami a podle Nařízení Komise (EU) č. 10/2011 by celková migrace neměla překročit limit stanovený na 10 mg migrujících látek na 1 dm² materiálu [1]. Pro stanovení hodnoty celkové migrace jsou využívány metody, při kterých jsou zpravidla místo reálných potravin používány simulanty potravin, které jsou přesněji definované. Podle povahy potraviny, se kterou má přijít materiál do styku, je vybrán příslušný simulant potravin. Hodnota celkové migrace je ovlivňována několika faktory. Velký vliv mají podmínky samotné migrace, ale i například složení a vlastnosti potraviny (příp. použitého simulantu potravin) a obalového materiálu [2-7].

Testování celkové migrace může být provedeno několika způsoby. Postup je obvykle volen podle povahy obalového materiálu a podle předpokládaného použití, resp. kontaktu s potravinou [1]. Zkoušku lze provést jako jednostranný nebo oboustranný kontakt materiálu (materiál je v kontaktu se simulantem z obou stran). Pro jednostranný kontakt lze použít např. migrační celu (ocelová, skleněná, hliníková). Další možností je sáčková metoda, která se používá pro plošné svařitelné materiály (fólie). Spočívá ve svaření sáčku přímo ze vzorku, který je následně naplněn známým množstvím simulantu potravin. O jednostranný kontakt se jedná i v případě, kdy je samotný (neupravený) obal naplněn simulantem potravin. Při oboustranném kontaktu je celý vzorek ponořen do simulantu potravin. Pro tyto migrační zkoušky je využívána např. Hellendahlova cela nebo skleněné vialky. Ve všech případech musí být známa přesná plocha části vzorku, která je ve styku se simulantem potravin. Do vytemperované testovací nádoby je vložen případně připevněn vzorek obalového materiálu. Po naplnění simulantem potravin (vzorek je přiveden do kontaktu se simulantem potravin) je testovací nádoba ponechána v termostatu po stanovenou dobu při určité teplotě. Po uplynutí doby migrační zkoušky je simulant potravin (extrakt) převeden do odpařovací misky o známé hmotnosti a odpařen na vodní lázni. Po odpaření je odpařovací miska s odparkem sušena v sušárně při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti. Hmotnost zbytku po odpaření je množství látek, které přestoupily z obalu do simulantu potravin, tedy celková migrace, která se dle Nařízení Komise (EU) č. 10/2011 vyjadřuje v mg·dm⁻² [1].

Problémové je stanovení celkové migrace do tučných potravin, kde je používán simulant D2, který byl dříve definován jako jakýkoliv rostlinný olej s předepsaným složením mastných kyselin. Dnes je simulant D2 definován jako rostlinný olej obsahující méně než 1 % nezmýdelnitelné hmoty [1]. To umožňuje použít několik druhů olejů. Často používaným rostlinným olejem je olej olivový [8, 9], nebo olej slunečnicový [10]. Tento simulant není odpařitelný, proto není možné provést stanovení gravimetricky. Dále během styku vzorku s olejem dochází k absorpci oleje, je tedy nutné provést korekci. Tato korekce spočívá ve stanovení množství absorbovaného oleje vzorkem a odečtení této hmotnosti od hmotnosti vzorku po migrační zkoušce. Metoda proto vyžaduje složitější postup s více kroky. Jedná se o časově i finančně náročnou metodu [1]. Na obrázku 1 je

schéma postupu testování celkové migrace do rostlinného oleje pomocí ocelové migrační cely.



Obrázek 1: Schéma postupu testování celkové migrace do rostlinného oleje pomocí ocelové migrační cely.

Z výše uvedených důvodů jsou stále vyvíjeny nové metody, které by stanovení celkové migrace do tučných potravin ulehčily a snížily jeho časovou náročnost.

Mezi často uvažované možnosti zjednodušení patří využití odpařitelných náhrad rostlinného oleje a využití matematických modelů pro predikci celkové migrace.

Testované materiály

Testovaným materiálem byla modrá LDPE fólie o tloušťce 150 μm . Její složení je uvedeno v tabulce I.

Tabulka I: Složení modré LDPE fólie

Název složky (účel)	Látky se specifickým migračním limitem
LDPE 2801HOW (polymer)	oktadecyl-3-(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)propanoát; ethylenoxid;
LLDPE 118WJ (polymer)	difluoro-1,1-ethylen; hexafluoropropylen;
Polybatch AMF 705 (pomocná látka)	ethylenglykol; diethylenglykol; 1-hexen;
Antistat Ampacet 102669 (antistatická látka)	ethan-1,2-diol; bis(2-hydroxyethyl)ether;
Antiblok AB OK630 LD (antiblokační látka)	ethylenglykol-bis[3,3-bis(3-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)butanoát]
Resistex 1810F (kopolymer)	
Maxiten HP 5CO831 (antiblokační směs)	

Migrační zkoušky

Založení zkoušek

Vzorky obalového materiálu o známých rozměrech (1,5 cm × 4,0 cm) a známé hmotnosti byly umístěny do tmavých skleněných vialek, zality 40 ml simulantu potravin D2 (rostlinného oleje) a uzavřeny víčkem. Takto připravené vzorky byly vloženy do termostatu předehřátého na požadovanou teplotu, kde byly ponechány stanovenou dobu, podle typu migrační zkoušky. Stejná „migrační zkouška“ ve tmavé vialce byla provedena u standardu oleje, který po celou dobu nebyl ve styku s obalovým materiálem.

Extrakce absorbovaného oleje diethyletherem a esterifikace mastných kyselin v kyselém prostředí

Po ukončení migrační zkoušky byly vzorky obalového materiálu vyjmuty z vialek, buničitou vatou otřeny od přebytečného oleje a zváženy. Zbytky oleje sorbované v obalovém materiálu, které v něm zůstaly po jeho otření, byly extrahovány vložением vzorku do 250ml baněk s kulatým dnem s přidavkem 50 ml diethyletheru. Baňky se vzorkem byly umístěny na topná hnízda, kde byl diethylether vařen pod zpětným chladičem po dobu 30 minut. Po extrakci byly vzorky vyjmuty z baněk a diethylether odpařen na rotační vakuové odparce (teplota vodní lázně nastavena na 40 °C). Do jednotlivých baněk bylo přidáno 49,5 ml methanolu, 0,5 ml koncentrované kyseliny sírové a 100 µl vnitřního standardu kyseliny heptadekanové ($c = 5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$). Do baňky byl také přidán varný kamínek z důvodu prevence vzniku nebezpečí při tzv. utajeném varu. Methylace mastných kyselin probíhala na topném hnízdě pod zpětným chladičem po dobu 2 hodin. Po dokončení esterifikace bylo přidáno 5 ml n-heptanu, topná hnízda byla vypnuta a vzorky byly ponechány pod zpětným chladičem do vychladnutí. Standard oleje (olej bez vzorku obalového materiálu), u kterého byla provedena stejná migrační zkouška, byl navážen (cca 20 mg) do 250ml baňky a byla u něj provedena extrakce i esterifikace za stejných podmínek jako u ostatních vzorků (viz výše). Po vychladnutí všech vzorků a standardu oleje byl přidán do jednotlivých baněk až po zábrus nasycený roztok chloridu sodného, čímž došlo k oddělení heptanové vrstvy s methylestery mastných kyselin (horní vrstva), která byla pomocí skleněné Pasteurovy pipety převedena do 2ml vialek.

Extrakce heptanem a esterifikace mastných kyselin v alkalickém prostředí

Po ukončení migrační zkoušky byly vzorky obalového materiálu vyjmuty z vialek, buničinou otřeny od přebytečného oleje a zváženy. Otřené vzorky byly vloženy do 30ml průhledných vialek. Ke vzorku byl přidán vnitřní standard (glyceryltridekanoát) a 8 ml n-heptanu, následně se obsah vialky krouživým pohybem zamíchal. Dále bylo přidáno 800 µl 2M methanolického roztoku hydroxidu draselného a po uzavření vialky víčkem následovalo 30 sekund třepání a 5 minut extrakce pomocí ultrazvukové lázně. Poté bylo do vialky přidáno 400 µl 14% methanolického roztoku fluoridu boritého, který zde slouží jako katalyzátor, po kterém opět následovalo uzavření, třepání 30 sekund a esterifikace v ultrazvukové lázni po dobu 5 minut. Po rozdělení dvou fází byla do čisté vialky

odebrána horní heptanová vrstva pomocí skleněné Pasteurovy pipety, přidán 1 ml destilované vody a obsah byl opět protřepán. Po oddělení fází byla pomocí skleněné Pasteurovy pipety převedena horní vrstva do 5ml vialek, k tomuto podílu bylo přidáno 0,5 g síranu hořečnatého, který zde působil jako vysoušedlo. Po usazení byla čirá část vzorku převedena do 2ml vialek na plynovou chromatografii.

Stanovení methylesterů mastných kyselin

Vzorky byly nastříknuty na kolonu plynového chromatografu s hmotnostním detektorem (parametry jsou uvedené v následující tabulce II), identifikace methylesterů mastných kyselin a vyhodnocení chromatogramů proběhlo pomocí chromatografického SW Agilent Chemstation a knihovny hmotnostních spekter NIST14. Pro kvantifikaci byla použita metoda vnitřního standardu.

Tabulka II: Parametry plynové chromatografie.

Parametry plynového chromatografu a hmotnostního detektoru	
mobilní fáze	helium
průtok mobilní fáze	0,8 ml/min
kolona	DB-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm)
objem nástřiku	1 μl
mód	split 30:1
teplotní program pece	60 °C (výdrž 1 minuta), 200 °C (30 °C/min), 300 °C (20 °C/min, výdrž 5 minut)
teplota nástřiku	250 °C
tlak nástřiku	5,8 psi
teplota iontového zdroje	230 °C
teplota kvadrupólu	150 °C
ionizace	EI +70 eV

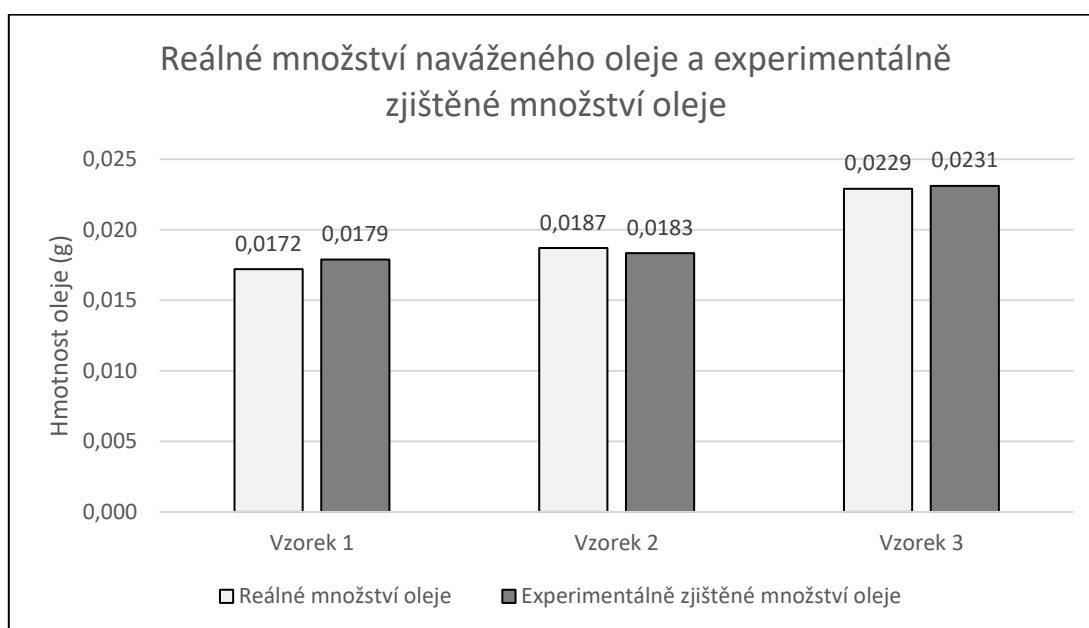
Výsledky

V laboratoři byla pro stanovení absorbovaného oleje ve vzorku při analýze celkové migrace obvykle využívána metoda s esterifikací mastných kyselin v kyselém prostředí, která je relativně časově náročná. Proto byla hledána metoda, která by byla rychlejší a umožnila tím více analýz v kratším časovém úseku.

Pro stanovení absorbovaného oleje vzorkem byla navržena metoda zahrnující esterifikaci mastných kyselin v alkalickém prostředí. Tato metoda byla vytvořena modifikací metody uvedené v Nařízení Komise (EU) 2015/1833 ze dne 12. října 2015. Množství použitých činidel bylo upraveno podle velikosti vzorku a objemu vialky (30 ml), ve které byla prováděna extrakce absorbovaného oleje i esterifikace mastných kyselin. Původní metoda zahrnovala třepání pro podpoření extrakce oleje ze vzorku. Po třepání byl zařazen ultrazvuk, který měl zvýšit výtěžnost extrakce absorbovaného oleje vzorkem, a zároveň

by nedošlo k významnému navýšení doby extrakce. Pro zvýšení účinnosti esterifikace mastných kyselin byl do postupu zařazen přídavek fluoridu boritého, který je používán při stanovení mastných kyselin a slouží jako katalyzátor esterifikační reakce. Dále do metody bylo zařazeno promytí destilovanou vodou. Destilovaná voda, jakožto polární rozpouštědlo, vychytá depozitní zbytky hydroxidu draselného obsaženého v heptanové vrstvě. Dále pomáhá v odstranění více polárních frakcí z vrchní heptanové vrstvy do spodní vrstvy a rychlejšímu přechodu méně polárních frakcí (methylestery mastných kyselin s kratším uhlovodíkovým řetězcem) do vrchní heptanové vrstvy. Aby nedošlo k následné hydrolýze vzniklých methylesterů mastných kyselin vlivem přítomnosti zbytkové vody, bylo po promytí vodou v odebrané heptanové vrstvě provedeno sušení bezvodým síranem hořečnatým.

Ověření této metody bylo provedeno metodou stanovení výtěžnosti oleje absorbovaného vzorkem. Na tři vzorky modré LDPE fólie bylo naváženo a rozetřeno známé množství oleje, takto připravené vzorky ve skleněných vialkách byly vloženy do termostatu, ve kterém byly ponechány 24 hodin při teplotě 70 °C (simulace migrační zkoušky). Na obrázku 2 je zobrazeno porovnání množství naváženého oleje a množství oleje stanovené pomocí metody esterifikace mastných kyselin v alkalickém prostředí.



Obrázek 2: Porovnání množství naváženého oleje s naměřeným množstvím extrahovaného oleje z modré LDPE fólie pomocí metody esterifikace mastných kyselin v alkalickém prostředí.

Ze sloupcového grafu je patrné, že množství nalezeného oleje relativně odpovídá množství oleje, které bylo na začátku analýzy na vzorek naváženo. Chyba stanovení množství oleje se pohybuje od 1 do 4 %. Průměrná výtěžnost metody byla stanovena na 101 ± 2 %. Toto nadhodnocení, které by vedlo k vyšším výsledkům celkové migrace je v jisté míře žádoucí, z hlediska principu předběžné opatrnosti u hodnocení bezpečnosti materiálů přicházejících do styku s potravinami. Z výsledků tedy plyne, že tato metoda je

vhodná pro stanovení množství absorbovaného oleje vzorkem u materiálu typu LDPE fólie. Pro zjištění vhodnosti metody pro další materiály by bylo dobré provést další měření na více typech materiálů.

Porovnání metod pro stanovení absorbovaného oleje vzorkem

V této práci byly porovnány dvě metody pro stanovení absorbovaného oleje vzorkem. A to metoda s extrakcí pomocí diethyletheru s esterifikací mastných kyselin v kyselém prostředí, která byla využívána již v minulosti při stanovování celkové migrace z materiálů určených pro styk s potravinami. Druhá námi navržená metoda je založená na extrakci pomocí n-heptanu v kombinaci s esterifikací mastných kyselin v alkalickém prostředí. U obou metod byla využita plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem pro stanovení množství mastných kyselin.

Pro obě metody byla provedena simulace migrační zkoušky se známým množstvím řepkového oleje, pomocí které byla stanovena výtěžnost obou metod, výsledky jsou uvedeny v tabulce III.

Tabulka III: Výtěžnost metod založených na esterifikaci mastných kyselin v kyselém a alkalickém prostředí.

Metoda	Reálné množství oleje (g)	Experimentálně zjištěné množství oleje (g)	Rozdíl (%)
Diethylether + esterifikace v kyselém prostředí	0,0239	0,0228	5,0
	0,0255	0,0252	1,0
	0,0258	0,0225	13,0
n-Heptan + esterifikace v alkalickém prostředí	0,0172	0,0171	0,4
	0,0187	0,0176	6,1
	0,0229	0,0221	3,4

Průměrná chyba metody s esterifikací mastných kyselin v kyselém prostředí je $6 \pm 5 \%$, zatímco u metody esterifikace mastných kyselin v alkalickém prostředí to je pouze $3 \pm 2 \%$. V obou případech je chyba stanovení relativně nízká, ale metoda s esterifikací mastných kyselin v alkalickém prostředí je oproti metodě s esterifikací v kyselém prostředí o něco přesnější, dává konzistentnější výsledky.

Významným rozdílem těchto dvou metod je i časová náročnost, která je uvedena pro analýzu jedné sady vzorků v tabulce IV.

Tabulka IV: Srovnání časové náročnosti metod pro stanovení absorbovaného oleje vzorkem.

Esterifikace mastných kyselin v kyselém prostředí		Esterifikace mastných kyselin v alkalickém prostředí	
Pracovní úkon	Čas (min)	Pracovní úkon	Čas (min)
Extrakce diethyletherem + příprava	30 + 10	Příprava vnitřního standardu	10
Odpaření diethyletheru na vakuové odparce	15	Příprava 2M KOH	10
Příprava vnitřního standardu	10	Přídavek vnitřního standardu, n-heptanu	2
Esterifikace mastných kyselin + příprava	120 + 10	1. třepání – ultrazvuk – třepání	1 + 5 + 1
Přidání n-heptanu a chlazení směsi	10	Přídavek 2M KOH a BF ₃	2
Příprava nasyceného roztoku NaCl	10	2. třepání – ultrazvuk – třepání	1 + 5 + 1
Přídavek NaCl, rozdělení fází, odběr do vialky na GC/MS	5	Odběr horní fáze do čisté vialky + přídavek destilované vody a třepání	3 + 3
		Odběr horní fáze do čisté vialky + přídavek MgSO ₄	3 + 1
		Rozdělení fází a odběr horní fáze do vialky na GC/MS	5
Celkový čas	220	Celkový čas	53

Odhad časové náročnosti je uváděn pro tři paralelní stanovení + standard oleje.

V tabulce IV jsou pro obě metody vypsány jednotlivé kroky, a přibližná doba potřebná pro jejich vykonání. Z celkových časů jednotlivých metod je jasné patrné, že metoda s esterifikací mastných kyselin v alkalickém prostředí je významně méně časově náročná, je to přibližně ¼ času z celkové doby metody esterifikace mastných kyselin v kyselém prostředí. Nejvýznamnější zkrácení doby této metody spočívá v tom, že extrakce oleje a esterifikace mastných kyselin není prováděna na topném hnízdě za vysoké teploty. Pro zvýšení účinnosti těchto dvou kroků byla využita ultrazvuková lázeň a přidání katalyzátoru esterifikace – roztok fluoridu boritého.

Časová náročnost souvisí s maximálním možným množstvím vzorků v rámci jedné analýzy. Stanovení množství vzorků, které lze analyzovat v jedné sadě najednou není jednoznačné. U metody esterifikace mastných kyselin v kyselém prostředí počet vzorků omezuje především dostupné množství topných hnízd. V našem případě jsme měli k dispozici 8 topných hnízd, tudíž bylo současně analyzováno maximálně 8 vzorků. Esterifikace mastných kyselin na topných hnízdech však dává časový prostor pro přípravu dalších vzorků. U metody esterifikace mastných kyselin v alkalickém prostředí

nevznikají časové prostoje, nelze tedy provádět více analýz najednou. U této metody byl aplikován maximální počet vzorků v jedné sadě na 12 vzorků pro jednu analýzu.

Metoda s esterifikací mastných kyselin v alkalickém prostředí obsahuje více kroků, jejichž součástí je příprava několika roztoků, které jsou pipetovány v dané posloupnosti. Je zde tedy kladen vysoký nárok na laboratorní zručnost a přesnost laboratorních pomůcek (např. pipety).

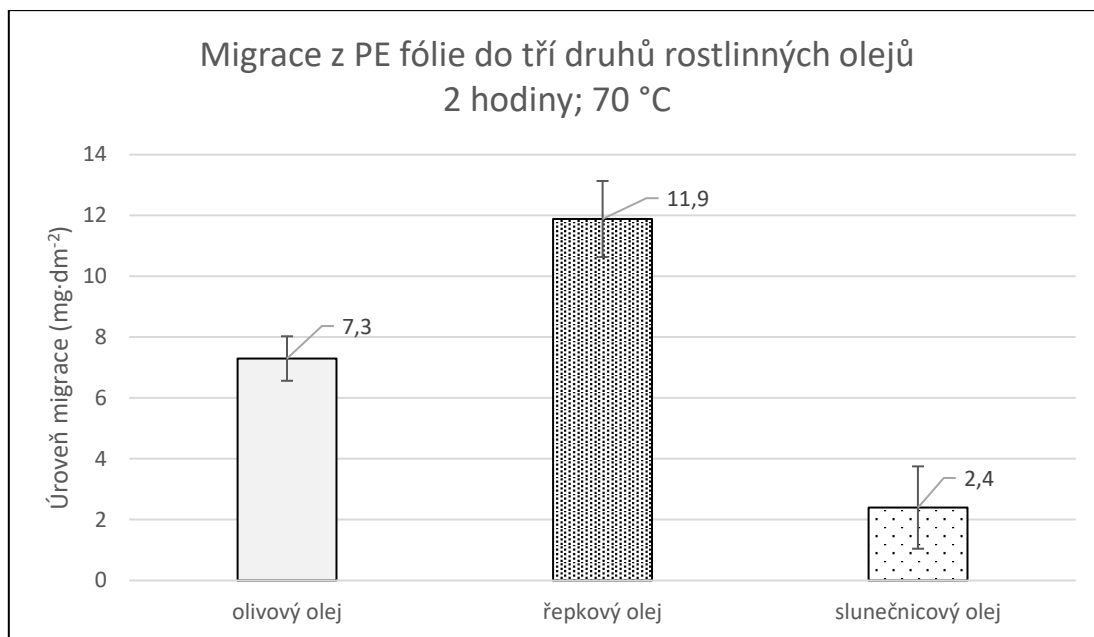
Další výhodou metody esterifikace mastných kyselin v alkalickém prostředí je to, že po ukončení migrační zkoušky a otření, je vzorek s nízkou hmotností vážen v prázdné vialce o relativně nízké hmotnosti, ve které následně probíhá extrakce i esterifikace mastných kyselin v přítomnosti vzorku. Což znamená, že je se vzorkem minimálně manipulováno. Zatímco u metody s esterifikací mastných kyselin v kyselém prostředí, je vzorek po migrační zkoušce a otření vážen v baňce s kulatým dnem, která má oproti vzorku vysokou hmotnost, a tím dochází ke zvýšení chyby vážení, která se může promítnout na výsledku celkové migrace. Případně může být vzorek vážen mimo baňku, ale zde hrozí, že část oleje z povrchu vzorku zůstane na podložce, na které je vzorek vážen, a tím vznikne chyba vážení, která se opět promítne na výsledku celkové migrace. Další nevýhodou je, že vzorek je po extrakci z baňky vyjmut a hrozí další ztráty zbytků oleje, které zůstávají po migraci na povrchu testovaného materiálu. Tento problém se dá částečně eliminovat oplachem částečně vyjmutého vzorku čistým diethyletherem.

Porovnání celkové migrace do tří druhů rostlinných olejů

Legislativa povoluje použít jako simulant tučných potravin (simulant D2) jakýkoliv rostlinný olej, který obsahuje maximálně 1 % nezmýdelnitelného podílu. Tuto podmínku splňuje několik druhů olejů. V odborné literatuře se některé studie zabývají vlivem druhu rostlinného oleje na celkovou migraci [11, 12, 13]. Tato problematika bývá konzultována i s výrobcí materiálů určenými pro kontakt s potravinami, kteří se snaží dosáhnout co nejnižších úrovní migrace výběrem vhodného oleje pro testování. Proto byla testována celková migrace do tří druhů dostupných olejů a pozorován jejich vliv na celkovou migraci. Pro tento účel byl vybrán řepkový, slunečnicový a olivový olej.

Jako vhodný materiál k testování byl vybrán polyethylen, který je často používán v obalových materiálech potravin. Byla tedy provedena migrační zkouška z modré LDPE fólie do olivového, řepkového a slunečnicového oleje. Doba migračních zkoušek byla nastavena na 2 hodiny a 3 dny při teplotě 70 °C.

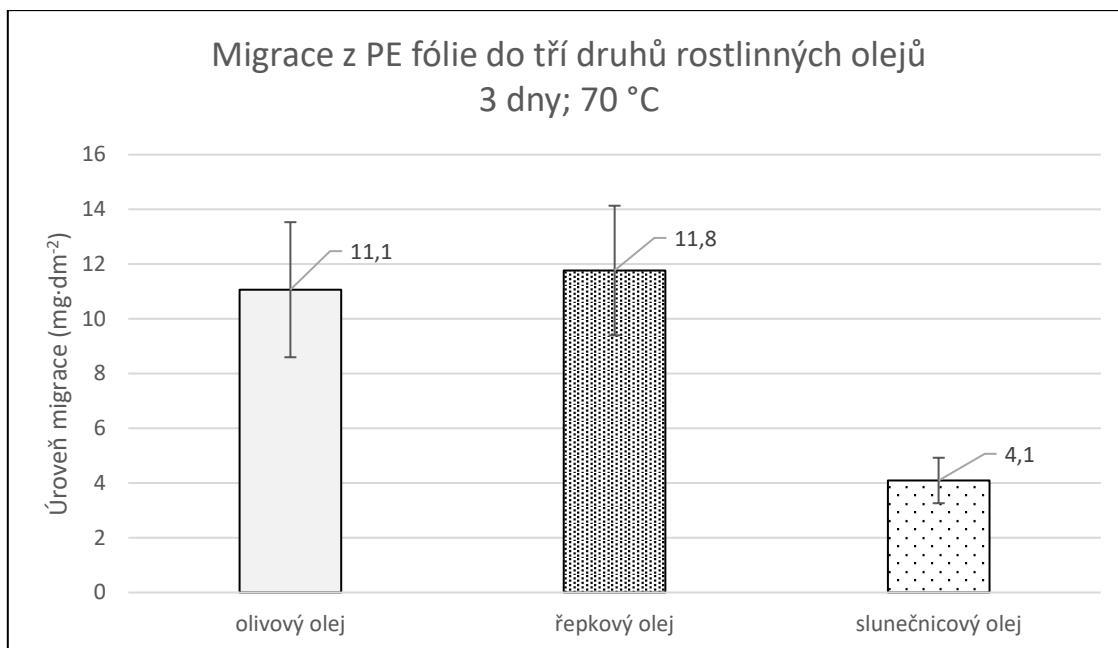
Porovnání naměřených hodnot celkové migrace z modré LDPE fólie do jednotlivých olejů je zobrazeno v grafech na obrázcích 3 a 4.



Obrázek 3: Porovnání celkové migrace z modré LDPE fólie do olivového, řepkového a slunečnicového oleje (podmínky migrace – 2 hodiny; 70 °C).

Stanovené hodnoty celkové migrace do všech tří olejů byly statisticky zpracovány pomocí funkce ANOVA (analýza rozptylu, $\alpha = 0,05$), pomocí které bylo vyhodnoceno, že hodnoty celkové migrace do všech tří olejů jsou statisticky odlišné. Na obrázku 3 můžeme vidět, že úroveň celkové migrace do řepkového oleje po 2 hodinách je $11,9 \pm 1,2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$, což je vyšší úroveň celkové migrace oproti ostatním druhům olejů. Zároveň dochází k překročení limitu celkové migrace ($10 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$), a to i v případě odečtení chyby měření, proto by v tomto případě byl materiál prohlášen za nevyhovující. U olivového oleje, byla úroveň celkové migrace stanovena na hodnotu $7,3 \pm 0,7 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$, což se nachází pod limitem celkové migrace. Úroveň celkové migrace do slunečnicového oleje je znatelně nižší než do ostatních rostlinných olejů, odpovídá hodnotě $2,4 \pm 1,4 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$.

Na obrázku 4 je porovnání naměřených hodnot celkové migrace z modré LDPE fólie do tří druhů rostlinných olejů po 3 dnech kontaktu při 70 °C.



Obrázek 4: Porovnání celkové migrace z modré LDPE fólie do olivového, řepkového a slunečnicového oleje (podmínky migrace – 3 dny; 70 °C).

Z grafu na obrázku 4 je patrné, že nejvyšších hodnot celkové migrace bylo opět dosaženo u řepkového oleje ($11,8 \pm 2,4 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$). Mírně nižší průměrná hodnota celkové migrace oproti řepkovému oleji byla naměřena u migrace do olivového oleje ($11,1 \pm 2,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$). Pomocí statistického zpracování funkcí ANOVA (analýza rozptylu, $\alpha = 0,05$) bylo zjištěno, že hodnoty celková migrace do olivového a řepkového oleje se statisticky neliší. Nejnižší úroveň migrace byla opět zjištěna u slunečnicového oleje ($4,1 \pm 0,8 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$).

Tawfik (2005) porovnával celkovou migraci z PP lahví do olivového a slunečnicového oleje. Podmínky pro migrační zkoušky pro oba oleje, odpovídaly 20 dnům při 24 °C. Celková migrace do olivového oleje byla stanovena na hodnotu $1,42 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$, pro slunečnicový olej úroveň celkové migrace odpovídala hodnotě $2,4 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$, což je téměř dvakrát vyšší úroveň celkové migrace než u olivového oleje [12]. I když se jednalo o podobný materiál (PP) jako je námi testovaná LDPE fólie, u slunečnicového oleje byla zaznamenána vyšší migrace než u olivového oleje, tedy přesně naopak než bylo naměřeno námi pro LDPE fólii. To by mohlo být způsobeno rozdílnou sorpcí jednotlivých mastných kyselin do různých typů materiálů.

Na to, který z těchto olejů je nejvhodnější pro testování celkové migrace do tučných potravin se lze dívat z různých pohledů. V případě že se na to budeme dívat z pohledu spotřebitele (případně kontrolního orgánu), pro kterého je žádoucí, aby byla migrační zkouška co nejprísnejší, a tím bylo zajištěno, že do styku s potravinami se dostane obal s nejnižší úrovní celkové migrace. Pak bychom vyhodnotili jako nejvhodnější ze strany ochrany spotřebitele rostlinný olej ten, u kterého bylo dosaženo nejvyšších hodnot celkové migrace. V našem případě by se jednalo o řepkový olej. Je však nutné zmínit, že úroveň celkové migrace plně nereflektuje bezpečnost materiálu či zdravotní nezávadnost,

ale spíše jeho inertnost. Bezpečnost materiálu je interpretována spíše specifickou migrací, která má však vliv na celkovou migraci. Z pohledu výrobce obalových materiálů by to bylo nejspíše naopak. Pro výrobce je žádoucí, aby celkovým migračním limitem prošlo, co nejvíce materiálů, které distribuuje. To znamená použít olej, u kterého byla zjištěna nejnižší celková migrace. Z našich dat by se jednalo o slunečnicový olej. Pokud budeme uvažovat, že plně rafinovaný olivový olej by se choval stejně jako olivový olej použitý v této práci, všechny tři oleje splňují platnou legislativu a mohou být pro testování použity.

Závěr

Na základě výsledků diskutovaných v této práci lze vyslovit následující závěry.

- Nová metoda zahrnující esterifikaci mastných kyselin v alkalickém prostředí se ukázala jako vhodná metoda pro stanovení množství oleje absorbovaného ve vzorku. Tato metoda je vhodná pro tenké materiály, jako jsou například fólie.
- U metody s esterifikací mastných kyselin v alkalickém prostředí pro stanovení oleje absorbovaného ve vzorku bylo dosaženo podobné výtěžnosti, jako u metody s esterifikací mastných kyselin v kyselém prostředí.
- Výhodou metody s esterifikací mastných kyselin je nízká časová náročnost a malá míra manipulace se vzorkem během analýzy.
- Úroveň celkové migrace z LDPE fólie do tří různých olejů byla rozdílná. Z toho vyplývá, že použitý typ rostlinného oleje jako simulantu tučných potravin má vliv na celkovou migraci.
- Nejvyšší celková migrace byla zaznamenána do řepkového oleje, naopak úroveň celkové migrace do slunečnicového oleje dosahovala nejnižších hodnot.

Poděkování: *Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt A1_FPBT_2021_004*

Literatura

- [1] Nařízení komise (EU) č. 10/2011, ze dne 14. ledna 2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami, K. EU, Editor. 2011.
- [2] Demont, M., a kol., Migration of 18 trace elements from ceramic food contact material: Influence of pigment, pH, nature of acid and temperature. Food and Chemical Toxicology, 2012. 50(3): p. 734–743.
- [3] Lin, Q.-B., a kol., Effect of graphene on the migration of two ultraviolet absorbents from graphene-LDPE composite films into a fatty food simulant. Food Packaging and Shelf Life, 2017. 12: p. 9–15.
- [4] Garde, J.A., a kol., Characterizing the migration of antioxidants from polypropylene into fatty food simulants. Food additives and contaminants, 2001. 18(8): p. 750–762.
- [5] Zabihzadeh Khajavi, M., a kol., A model study on the migration of Irganox 1010 from low density polyethylene into a fatty food simulant as a function of incorporated spherical and plate-like nanoparticles. Food Packaging and Shelf Life, 2019. 22: p. 100333.
- [6] Chang, N., a kol., Migration of toluene through different plastic laminated films into food simulants. Food Control, 2016. 59: p. 164–171.
- [7] Zhang, Y., a kol., Evaluation of the migration of UV-ink photoinitiators from polyethylene food packaging by supercritical fluid chromatography combined with photodiode array detector and tandem mass spectrometry. Polymer Testing, 2016. 53: p. 276–282.

- [8] Stoffers, N.H., a kol., Alternative fatty food simulants and diffusion kinetics of nylon 12 food packaging. Food additives and contaminants, 2003. 20(10): p. 949–959.
- [9] Sarria-Vidal, M., J. de la Montaña-Miguélez, J. Simal-Gándara, Toward a Test of Overall Migration from the Coated Face of a Recycled Paperboard Food Contact Material into Fatty Food Simulants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997. 45(7): p. 2701-2707.
- [10] Edgar Andres Avendaño, F., E.C. Serna, L. Diana Cristina Sinuco, Overall migration test in food packaging: Evaluation of alternative internal standards. Revista colombiana de química, 2018. 47(1): p. 34-40.
- [11] Figge, K., Migration of additives from plastics films into edible oils and fat simulants. Food and Cosmetics Toxicology, 1972. 10(6): p. 815-828.
- [12] Tawfik, M.S., Interaction of Packaging Materials and Vegetable Oils: Overall Migration and Oil Absorption. Journal of Food Technology, 2005. 3: p. 506–510.
- [13] Khaneghah, A.M. a kol., Study of the effect of fatty acids profile on overall migration from PET into different types of oil. International Food Research Journal, 2015. 22(5): p. 1888–1893.

Kontaktní adresa: vapenkal@vscht.cz



Společnost Devro je předním světovým výrobcem jedlých kolagenových střívek a gelů, který dodává širokou škálu výrobků a poskytuje technické znalosti mnoha předním výrobcům uzenin a masových pochutin po celém světě.

**EXPERIENCE THE
DEVRO DIFFERENCE FOR YOURSELF!**

www.devro.com



DEVRO



Devro s.r.o., zákaznický servis pro ČR a SR
Víchovská 830, 514 01 Jilemnice

tel.: +420 481 563 111 | fax: +420 481 563 232
e-mail: infoccz@devro.com

Sborník příspěvků

**Food technology, food quality
Nové trendy v úchově potravin**

2022

Vydavatel: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice

Editoři: Tereza Škorpilová, Aleš Rajchl

Rok vydání: 2022

Počet stran: 272

Elektronická verze publikace ve formátu PDF.