

Využitie fytoncídov horčice v procese konzervácie potravín

ALICA RAJNIAKOVÁ—MILAN DRDÁK—VIOLA BUCHTOVÁ—MÁRIA TAKÁCSOVÁ
—BERNADETTA HOZOVÁ—DANIELA KORCOVÁ

Súhrn. Práca sa zaoberá štúdiom vplyvu fytoncídov horčičnej silice pri kombinovanej konzervácii (termosterilizácia — fytoncidy) hovädzieho mletého mäsa na zmeny niektorých výživových zložiek (sulfhydrylové skupiny, aminokyseliny) a tvorbu amoniaku. Modelová vzorka hovädzieho mäsa bola umelo kontaminovaná spórovou suspenziou *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ($10^4 \cdot \text{g}^{-1}$) a fytoncidy horčičnej silice boli pridávané tak, aby výsledná koncentrácia alylizotiokyanatanu vo vzorkách bola 0,05, 0,1, 0,2, 0,4 a 0,6 %. Vplyvom konzervácie poklesla koncentrácia celkových, nebielkovinových, bielkovinových a sulfhydrylových skupín a aminokyselín, a to s intenzitou termosterilizácie $F_0 = 0,5, 1,0, 5,0$ min. Vyššia koncentrácia fytoncídov (0,4 a 0,6 % izotiokyanátu) mala nepriaznivý vplyv na senzorké vlastnosti hovädzieho mäsa (mapovanie konzerv a páľivá chuť). Pri použití fytoncídov horčičnej silice je optimálny prídavok 0,05—0,1 % (alylizotiokyanatanu). Potvrдила sa dobrá baktericídna účinnosť a antioxidačné vlastnosti horčičnej silice.

Už dávno je dobre známa vysoká vlastná protimikrobiálna účinnosť horčičného semena i ochrana, ktorú poskytuje ako prísada k iným potravinám. Poznáme dva druhy horčice, horčica biela (*Sinapis alba* L.) a čierna (*Sinapis nigra* L.). Čierna horčica obsahuje glykozid sinigrín, biela horčica sinalbín. Tieto látky odštiepujú za vhodných okolností účinkom enzýmu mirozinázy dráždivé izotiokyanatany, ktoré dodávajú pokrmu korenistú chuť, spôsobujú štiplavosť pokrmov, ale hlavne sú nositeľmi inhibičného účinku na mikroorganizmy.

Alylizotiokyanatan z čiernej horčice skúšaný na vybrané baktérie (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*) a plesne (*Aspergillus niger*) v bujóne sa ukázal po 24 hodinách pôsobenia mikrobicídny ešte pri riedeniach $1 \cdot 10^5$ až $1 \cdot 10^6$ [1].

V pokusoch s kvasinkami sa ukázalo, že horčičný olej použitý v koncentrácii 0,02 % bol účinnejší ako kyselina benzoová v koncentrácii 0,035 %. Podobné

Ing. Alica Rajniaková, CSc., doc. Ing. Milan Drdák, DrSc., Viola Buchtová, prom. chem., Ing. Mária Takáčsová, CSc., RNDr. Bernadetta Hozová, CSc., Ing. Daniela Korcová, Katedra sacharidov a konzervácie potravín Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

účinky mala aj múka z čiernej horčice, použitá v koncentrácii 1 % [1]. Inhibičná účinnosť izotiokyanatanov sa skúšala aj pri konzervácii ovocných štiav (jablčnej a hroznovej). Zistilo sa, že približne 1 % horčičného oleja stačilo konzervovať hroznovú šťavu, pričom túto prísadu nebolo poznať po chuti a vôni [2].

Horčica je známa aj antioxidačnou aktivitou, ktorou sa zaoberali Yamaguchi a kol. [3], ktorí zistili, že horčičný prášok má väčšiu antioxidačnú aktivitu ako chrenový.

Predmetom nášho experimentálneho štúdia bolo skúmať účinok fytoncidov horčičnej silice v kombinácii so zníženou intenzitou termosterilizácie ($F_0 = 0,5$ — 5 min) na niektoré výživové a senzoricky významné zložky modelových vzoriek hovädzieho mäsa umelo kontaminovaných spórovou suspenziou *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

Materiál a metódy

Pre experimentálne štúdium sme pripravili vzorky z hovädzieho mäsa výrobného zadného. Svaly sme zbavili šliach a ostatných nežiadúcich častí, pokrájali na kocky, pomleli na mlynčeku a zhomogenizovali na kútri. Do 1 kg množstva zhomogenizovaného mäsa sme pridali suspenziu spór *Bacillus subtilis* ($10^4 \cdot \text{g}^{-1}$) a kutrovali. Po homogenizácii sme pridávali horčičnú silicu v koncentrácii 0,05, 0,1, 0,2, 0,4, 0,6 % alylizotiokyanatanu. Kvôli mikrobiologickej kontrole sme pripravili vzorky bez inokulácie spór a bez prídavku silice. Po dokonalom premiešaní, kutrovaní, sme pripravenú surovinu plnili do plechoviek P 1/2 pri dodržiavaní vsádzkovej hmotnosti 425 g. Uzavreté plechovky sme sterilizovali v olejovom kúpeli pri teplote 121°C tak, aby sme dosiahli sterilizačné účinky $F_0 = 0,5, 1,0, 5,0$. Teploty v strede konzervy a v olejovom kúpeli boli snímané termočlámkami 6-kanálového termometra IT 685.

Prehľad pripravených vzoriek, ich označenie a spôsob konzervácie je uvedený v tab. 1.

Sulhydriové skupiny sme stanovili spektrofotometricky pri 412 nm po reakcii s kyselinou 5,5-ditio-2-nitrobenzoovou [4].

Koncentrácia aminokyselín bola stanovená na automatickom analyzátore aminokyselín AAA 339 fy Mikrotechna Praha, po kyslej hydrolýze vzoriek v HCl ($c = 6 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) pri teplote 105°C po dobu 24 hodín [5].

Amoniak sme stanovili mikrodifúziou v Conwayovej nádobke [6].

Koncentráciu alylizotiokyanatanu v horčičnej silici sme stanovili titračne po reakcii s roztokom AgNO_3 . Nespotrebovaný Ag^+ sme titrovali s roztokom NH_4SCN [7].

Koncentrácia alylizotiokyanatanu v horčičnej silici, zakúpenej v lekární, bola 97 %. Používali sme 50 a 25 % roztok alylizotiokyanatanu v 50 % etylalkohole.

Tabuľka 1. Prehľad a označenie modelových vzoriek hovädzieho mletého mäsa s prídavkom horčičnej silice

Table 1. Survey and indication of beef ground meat model samples with the addition of mustard oil

F_0^1 [min]	Kontrolné vzorky bez inokulácie a bez aditív ²	Aditívum + suspenzia spór <i>B. subtilis</i> ³ [10 ⁴ . g ⁻¹]				
		Horčičná silica ⁴ [%]				
		0,05	0,1	0,2	0,4	0,6
0,64	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆
0,87	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅	B ₆
5,45	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆
—	S ₁ — hovädzie mäso surové použité na prípravu vzoriek s prídavkom 0,2; 0,4; 0,6 % horčičnej silice a kontrolných vzoriek ⁵					
—	S ₂ — hovädzie mäso surové použité na prípravu vzoriek s prídavkom 0,05 a 0,1 % horčičnej silice ⁶					

1 — Intensity of thermosterilization, 2 — Check samples without inoculation and additives, 3 — Additive + spore suspension of *B. subtilis*, 4 — Mustard oil, 5 — Raw beef meat used for sample preparation with the addition of 0.2, 0.4, 0.6% of mustard oil and check samples, 6 — Raw beef meat used for the sample preparation with the addition of 0.05 and 0.1% of mustard oil.

Výsledky a diskusia

Vplyv prídavku fytoncídov horčičnej silice pri kombinovanej konzervácii hovädzieho mletého mäsa sme analyticky sledovali na zmene koncentrácie sulfhydrylových skupín, aminokyselín a amoniaku hneď po termosterilizácii. Výsledky stanovenia celkových, bielkovinových a nebielkovinových -SH skupín sú zhrnuté v tab. 2, aminokyseliny v tab. 3 a amoniaku v tab. 4.

Modelové vzorky konzervované kombináciou termosterilizácie a prídavku fytoncídov horčice sme pripravovali v dvoch etapách. V prvej etape sme pripravili vzorky s prídavkom horčičnej silice 0,2—0,6 %. Tieto vysoké koncentrácie neboli prijateľné po senzorickej stránke, preto sme pri ďalšom pokuse pripravili vzorky s nižším prídavkom fytoncídov — 0,05 a 0,1 % alylizotiokyanatanu. Pri výpočtoch retencie sledovaných výživových zložiek sme vychádzali zo suroviny použitej pri jednotlivých pokusoch (S₁, S₂).

Hovädzie mäso použité na prípravu modelových vzoriek s prídavkom 0,2—0,6 % horčičnej silice malo 584,7 mg . kg⁻¹ celkových -SH skupín, 14,25 mg . kg⁻¹ nebielkovinových a 570,4 bielkovinových. Na prípravu vzoriek s prídavkom 0,05 a 0,1 % fytoncídov horčice sme použili hovädzie mäso s koncentráciou celkových sulfhydrylových skupín 456 mg . kg⁻¹ a nebielkovinových 15,6 mg . kg⁻¹. Vplyvom použitej konzervácie modelových vzoriek poklesla

09 Tabuľka 2. Výsledky analýz celkových, nebielkovinových a bielkovinových SH skupín v modelových vzorkách hovädzieho mletého mäsa s prídavkom spór *B. subtilis* a horčičnej silice po termosterilizácii ($n = 4$) ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

Table 2. Analyses results of total, non-proteinous and proteinous SH groups in model samples of beef ground meat with the addition of *B. subtilis* spores and mustard oils after thermosterilization ($n = 4$) ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

Vzorka ¹	F_0^2 [min]	Horčičná silica ³ [%]	Celkové SH skupiny ⁴			Nebielkovinové SH skupiny ⁵			Bielkovinové SH skupiny ⁶		
			\bar{x} [$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$]	s	Ret. [%]	\bar{x} [$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$]	s	Ret. [%]	\bar{x} [$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$]	s	Ret. [%]
S ₁	—	—	584,7	5,08	100,0	14,2	2,23	100,0	570,5	6,29	100,0
S ₂	—	—	456,0	2,58	100,0	15,6	1,09	100,0	440,8	13,92	100,0
A ₁	0,64	—	379,7	2,16	64,9	10,0	1,09	70,3	369,5	2,71	64,8
A ₂	0,48	0,05	300,1	2,13	65,2	10,8	1,24	83,3	289,4	3,04	65,6
A ₃	0,48	0,10	276,5	9,02	60,1	7,0	2,05	54,2	269,5	7,10	61,1
A ₄	0,64	0,20	299,2	9,48	51,2	9,7	1,75	68,0	288,3	10,86	50,4
A ₆	0,64	0,60	237,2	4,40	40,6	6,5	1,24	45,3	230,7	5,38	40,5
B ₁	0,87	—	354,4	7,69	60,6	9,1	1,16	64,1	345,2	7,74	60,5
B ₂	1,33	0,05	291,5	6,69	63,4	10,2	1,08	79,2	281,3	5,67	63,8
B ₃	1,33	0,10	228,1	3,51	49,6	9,1	1,03	70,8	218,9	2,71	49,7
B ₄	0,87	0,20	287,8	7,34	49,2	8,6	1,54	60,4	279,2	8,49	48,9
B ₆	0,87	0,60	225,8	5,26	38,6	8,1	2,24	55,6	217,8	6,66	38,2
C ₁	5,45	—	265,2	5,36	45,4	6,5	1,24	45,3	258,7	6,20	45,4
C ₂	5,47	0,05	249,0	7,32	54,1	8,6	1,24	66,7	240,4	8,49	54,5
C ₃	5,47	0,10	166,2	5,92	36,1	8,1	1,08	62,5	158,2	6,83	35,9

A₂, A₃, B₂, B₃, C₂, C₃ — vzorky pripravené zo suroviny S₂; Samples prepared from S₂ raw material.

1 — Sample, 2 — Intensity of thermosterilization, 3 — Mustard oil, 4 — Total SH groups, 5 — Non-proteinous SH groups, 6 — Proteinous SH groups.

Tabuľka 3. Výsledky analýz aminokyselín v modelových vzorkách hovädzieho mäsa s prídavkom spór *B. subtilis* a horčičnej silice po termosterilizácii g . kg⁻¹

Table 3. Analyses results of amino acids in model samples of beef ground meat with the addition of *B. subtilis* spores and mustard oil after thermosterilization (g kg⁻¹)

Aminokyselina ¹	Surové mäso ²		Sterilizované hovädzie mäso ³ — \bar{x}							
	S ₁	S ₂	A ₁	A ₂	A ₄	A ₆	C ₁	C ₂	C ₄	C ₆
Leucín ⁴	19,17	15,78	17,74	14,21	16,89	16,64	14,26	15,26	14,55	15,21
Izoleucín ⁵	8,76	8,14	8,93	6,77	8,69	8,13	7,40	7,98	7,64	7,87
Lyzín ⁶	18,57	17,09	18,25	15,65	18,43	18,06	15,96	16,89	16,17	16,58
Valín ⁷	9,07	7,86	12,09	8,79	10,42	9,70	9,49	10,49	9,49	10,33
Fenylalanín ⁸	10,35	9,33	10,50	9,23	10,91	9,25	9,41	10,16	9,41	10,32
Treonín ⁹	10,84	8,50	10,37	8,32	10,35	8,31	8,82	9,14	8,87	9,57
Metionín ¹⁰	7,33	5,49	6,30	5,30	6,26	6,65	5,34	6,11	5,77	5,42
S EAMK	83,99	72,19	84,18	68,27	81,95	76,74	70,68	76,03	71,90	75,30
Tyrozín ¹¹	9,68	6,80	8,92	6,77	8,38	6,48	7,36	7,39	7,23	8,33
Cystín ¹²	1,78	1,94	0,74	0,48	0,82	1,60	0,73	0,64	0,54	0,46
Histidín ¹³	12,63	8,66	11,94	8,79	11,71	8,20	9,64	9,46	10,07	10,24
Arginín ¹⁴	12,63	11,90	12,07	11,40	12,93	10,00	11,55	12,37	11,46	12,52
Serín ¹⁵	9,85	7,81	8,94	7,65	8,92	7,44	7,90	8,18	7,75	8,26
Prolín ¹⁶	14,12	10,85	13,52	10,61	13,75	14,97	10,23	12,23	10,63	10,50
Glycín ¹⁷	10,17	9,06	9,49	10,84	9,63	8,00	8,88	8,97	8,63	9,06
Alanín ¹⁸	13,21	10,96	12,70	8,24	12,31	10,52	10,78	11,45	10,78	11,46
Kys. organogénové ¹⁹	21,81	18,17	19,48	16,97	19,48	18,22	17,92	18,22	17,16	18,52

Tabuľka 4. Výsledky analýz amoniaku v modelových vzorkách hovädzieho mletého mäsa s prídavkom spór *S. subtilis* a horčičnej silice po termosterilizácii ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

Table 4. Ammonium analyses results in model samples of beef ground meat with the addition of *B. subtilis* spores and mustard oil after thermosterilization ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

Vzorka ¹	F_0 ² [min]	Horčičná silica ³ [%]	\bar{x} ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	s	Prírastok ⁴ [%]
S ₁	—	—	82,9	3,08	—
S ₂	—	—	99,8	3,21	—
A ₁	0,64	—	207,4	5,08	150,1
A ₂	0,48	0,05	372,8	7,05	273,5
A ₃	0,48	0,10	327,7	13,65	228,4
A ₄	0,64	0,20	207,4	8,30	150,1
A ₅	0,64	0,40	245,2	7,66	195,7
A ₆	0,64	0,60	244,6	9,14	194,9
C ₁	5,45	—	273,6	4,26	230,0
C ₂	5,47	0,05	363,7	7,10	264,4
C ₃	5,47	0,10	371,2	12,9	271,9
C ₄	5,45	0,20	214,4	3,31	158,5
C ₅	5,45	0,40	233,7	8,37	181,8
C ₆	5,45	0,60	236,7	7,76	185,4

A₂, C₂ — vzorky pripravené zo suroviny S₂; Samples prepared from S₂ raw material.

1 — Sample, 2 — Intensity of thermosterilization, 3 — Mustard oil, 4 — Addition.

koncentrácia sulfhydrylových skupín s intenzitou termosterilizácie. Zvyšujúca sa koncentrácia horčičnej silice vo vzorkách pôsobila nepriaznivo na koncentráciu celkových a nebielkovinových -SH skupín. Pridávaný alylizotiokyanatan je nestály a podlieha štiepeniu. Vznikajúci H₂S, ktorý vzniká pri štiepení a ktorý sa tiež odštiepuje z aminokyselín obsahujúcich síru pri termosterilizácii modelových vzoriek vytváral na stenách plechoviek sulfidy cínu a železa. Sulfidy sa javili na plechovkách ako mapovanie v rôznych farbách. Mapovanie konzerv bolo pri vyšších prídavkoch horčičnej silice vyššie.

Sulfhydrylové skupiny sa menili vplyvom sterilizačného účinku, ale pravdepodobne aj vplyvom alylizotiokyanatanu z horčičnej silice, ktorý je veľmi reaktívny, teda mohlo dôjsť k adičným reakciám. Pri koncentrácii horčičnej silice vo vzorkách 0,6 % a termosterilizačnom účinku $F_0 = 0,64$ poklesli celkové -SH skupiny o 59,4 % v porovnaní so surovinou, kým v porovnávacej vzorke (A₁) bez prídavku fytoncídov poklesli celkové -SH skupiny len o 35 %, podobný pokles so zvyšujúcou sa koncentráciou horčičnej silice sme zistili aj pri nebielkovinových a bielkovinových -SH skupinách (tab. 2). Najvyššia koncentrácia sulfhydrylových skupín sa uchovala vo vzorkách s prídavkom horčičnej silice 0,05 %.

Vplyvom kombinovanej konzervácie — termosterilizácie a rôznych prídavkov horčičnej silice — došlo k poklesu koncentrácie celkových aminokyselín úmerne s intenzitou termosterilizácie. Z esenciálnych aminokyselín sme zaznamenali najväčší úbytok cystínu, metionínu, lyzínu a leucínu. Tak isto došlo k zvýšeniu koncentrácie amoniaku v analyzovaných vzorkách a to nielen vplyvom termosterilizácie, ale aj so zvyšujúcou sa koncentráciou alylizotiokyantanu.

Pri použití fytoncídov horčice je optimálny prídavok horčičnej silice do 0,1 %. Vyššia koncentrácia má nepriaznivý vplyv na údržnosť sulfhydrylových skupín, aj na senzorické vlastnosti analyzovaných vzoriek hovädzieho mäsa. Pri posúdení mikrobiologickej kontroly boli vo všetkých vzorkách negatívne výsledky a potvrdila sa vysoká baktericídna účinnosť fytoncídov horčičnej silice [8, 9]. Pri sledovaní primárnych a sekundárnych produktov autooxidácie lipidov sme zisťovali antioxidačný účinok horčičnej silice [9].

Literatúra

1. KYZLINIK, V., Teoretické základy konzervace potravin. Praha, SNTL/Alfa 1988, 511 s.
2. HERSOM, A. G.—HULLAND, E. D., Canned Foods. Moskva, Legkaja piščevaja promyšlenost' 1983, 320 s.
3. YAMAGUCHI, N.—KANOO, M.—IKEDA, K.—KIJIMA, I., J. Jap. Soc. Food Sci. Technol., 31, 1984, č. 2, s. 114.
4. SEDLAK, J.—LINDSAY, R. H., Anal. Biochem., 25, 1968, s. 192.
5. MIKROTECHNA, n. p., Automatický analyzátor aminokyselin AAA 339. Návod k obsluze. Praha 1983, 43 s.
6. ČELIKOVSKÝ, J.—KÁŠ, J., Laboratorní metody posuzování mrazírenských výrobků. Praha, STI Potrav. Prům. 1963, 394 s.
7. KYZLINK, V. a kol., Laboratorní cvičení technologie neúdržných potravin. Praha, SNTL 1984, 311 s.
8. HOZOVÁ, B.—DRDÁK, M.—RAJNIAKOVÁ, A., Bulletin Potrav. Výsk., 28 (8), 1989, č. 3, s. 253.
9. DRDÁK, M. a kol., Závěrečná správa št. výsk. úlohy VII-5-1-07, Bratislava, Chemickotechnologická fakulta STU 1990, 301 s.

Do redakcie došlo 4. 10. 1991

Mustard phytoncides utilization in the process of food preservation

Summary

The work deals with the study of mustard oil phytoncides influence using combined preservation (thermosterilization — phytoncides) of beef ground meat on the changes of some nutrient components (sulphydryl groups, amino acids) and ammonia formation. Model sample of beef meat was deliberately contaminated by spore suspension of *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (10^4 g^{-1}) and mustard oil phytoncides were added to reach the following final concentrations of allyl isothiocyanate in samples: 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 and 0.6%. Under the influence of preservation, concentration of total, non-proteinous and proteinous sulphydryl groups and amino acids was decreased, applying the intensity of thermosterilization $F_0 = 0.5, 1.0, 5.0$. Higher phytoncides concentration (0.4 and 0.6% isothiocyanate) negatively affected the organoleptic properties of beef ground meat (can surveying and smart taste). If using mustard oil phytoncides, optimum addition ranges within 0.05—0.1% of allyl isothiocyanate. Good bactericidal effect and antioxidative properties of mustard oil were proved.

Использование фитонцидов горчицы в процессе консервирования пищевых продуктов

Резюме

Работа занимается исследованием влияния фитонцидов эфирного масла горчицы при комбинированном консервировании (термостерилизация — фитонциды) говяжьего рубленного мяса на изменения некоторых составных частей (сульфгидрильные группы, аминокислоты) и образование аммиака. Модельная проба говяжьего мяса была искусственно загрязнена суспензией спор *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ($10^4 \cdot \text{г}^{-1}$) и фитонцида эфирного масла горчицы были добавлены так, чтобы конечная концентрация аллилизотиоцианата в пробах была 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 и 0.6 %. Влиянием консервирования понизилась концентрация общих, небелковых, белковых сульфгидрильных групп и аминокислот и это с интенсивностью термостерилизации $\Phi_0 = 0.5, 1.0, 5.0$ мин. Повышенная концентрация фитонцидов (0.4 и 0.6 % изоцианата) имела неблагоприятное влияние на сенсорические свойства говяжьего рубленного мяса (съёмка консервов, горький вкус). При использовании фитонцидов эфирного масла горчицы оптимальная добавка есть 0.05—0.1 % (аллилизотиоцианата). Потвердилось хорошее бактерицидное действие и антиокислительные качества эфирного масла горчицы.