

Využitie fytoncídov čierneho korenia pri konzervácii potravín

ALICA RAJNIAKOVÁ - MILAN DRDÁK -
VIOLA BUCHTOVÁ - BERNADETTE HOZOVÁ

Súhrn. Práca sa zaoberá štúdiom vplyvu fytoncídov čierneho korenia pri kombinovanej konzervácii (termosterilizácia - fytoncídny) 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 fytoncídny čierneho korenia boli pridávané vo forme etanolového extraktu s výslednou koncentráciou piperínu 0,002; 0,004; 0,008 %. Vplyvom konzervácie poklesla koncentrácia celkových nebielkovinových a bielkovinových sulfhydrylových skupín, a to s intenzitou termosterilizácie ($F_0 = 0,5; 1,0$ a $5,0$). Koncentrácia piperínu na množstvo -SH skupín nevyplývala. Vplyvom kombinovanej konzervácie došlo k poklesu celkových aminokyselín o $12,5 - 14,1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ a k vzrastu amoniaku o 135 ($F_0 = 0,5$) až 348 % ($F_0 = 5,4$). Vo vzorkách pripravených s prídavkom extraktu z čierneho korenia bol prírastok amoniaku nižší o 60 % v porovnaní s kontrolnou vzorkou bez prídavku piperínu.

Jednou z možností, ako využiť pozitívne stránky konzervácie teplom a potlačiť negatívne účinky jej pôsobenia na nutričnú a organoleptickú kvalitu potravín, je jej kombinácia s antimikrobiálne pôsobiacimi látkami vyšších rastlín - fytoncídmi. Cieľom je dosiahnutie synergického alebo aditívneho účinku pôsobiacich činiteľov, ktorého výsledkom je mikrobiálna bezchybnosť a z nej vyplývajúca skladovacia stabilita konzervovaných potravín.

Medzi najbežnejšie používané zdroje fytoncídov v potravinárstve patria rôzne druhy korenia a ich maceráty. Fytoncídny majú rôzne chemické zloženie, mnohé z nich sú chuťovo a pachovo výrazné a naopak

Ing. Alica Rajniaková, CSc., Doc. Ing. Milan Drdák, DrSc., Viola Buchtová, prom.chem., RNDr. Bernadette Hozová, CSc., Chemickotechnologická fakulta, STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

mnohé veľmi účinné fytoncídny sú prchavé, senzorycky nevýrazné zlúčeniny.

Účinnou zložkou čierneho korenia je piperín, z chemického hľadiska zaradený medzi alkaloidy, spôsobujúci ostrú - pálivú chuť.

Z hľadiska skúmania antimikrobiálnych vlastností čierneho korenia sú významné štúdie autorov v konkrétnych potravinových systémoch a prítomnú mikroflóru, respektíve v modelových roztokoch. Ukázalo sa, že koncentrácia piperínu $0,04 \text{ g.kg}^{-1}$ je dostatočne účinná v surovej klobáse na *L.plantarum*, *Micrococcus fecalis*, *E.coli* a *Streptococcus faecalis* [1, 2]. Rovnako sa zistil inhibičný účinok alkoholického extraktu čierneho korenia na *Clostridium botulinum* [3] a na tvorbu aflatoxínov produkovaných *Aspergillus niger* [4]. Z hľadiska výživového je zaujímavé zistenie o antioxidačnom účinku čierneho korenia pri koncentrácii $0,1 \%$ [5].

Predmetom nášho experimentálneho štúdia bolo skúmať účinok fytoncídov alkoholického extraktu čierneho korenia v kombinácii so zníženou intenzitou termosterilizácie ($F_0 = 0,5 - 5 \text{ min}$) na niektoré výživové a senzorycky účinné zložky modelových vzoriek hovädzieho mäsa umelo kontaminovaných spórotvornou suspenziou *Bacillus subtilis*.

Materiál a metódy

Pre experimentálne štúdium sme pripravili vzorky hovädzieho mäsa výrobného zadného. Do 1 kg množstva zhomogenizovaného mäsa sme pridali suspenziu spór *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ($10^4 \cdot \text{g}^{-1}$) a kutovali. Po homogenizácii sme pridali extrakt čierneho korenia tak, aby koncentrácia piperínu vo vzorkách bola $0,002$, $0,004$ a $0,008 \%$. Po dokonalom premiešaní sme takto pripravenú surovinu plnili do plechoviek P 1/2 s dodržaním vsádkovej hmotnosti 425 g . Kontrolné vzorky sme pripravili s prídavkom 1% NaCl. Uzavreté plechovky sme sterilizovali v olejovom kúpeli pri teplote 121°C tak, aby sa dosiahli sterilizačné účinky F_0 ($0,5$; $1,0$; $5,0$). Teploty boli snímané termočlánkami 6-kanálového termometra IT 68. Prehľad pripravených vzoriek, ich označenie a spôsob konzervácie je uvedený v tab.1.

Sulfhydriové skupiny sme stanovili spektrofotometricky pri 412 nm po reakcii s kyselínou $5,5'$ -ditio-2-nitrobenzoovou [6].

Tabuľka 1. Prehľad a označenie modelových vzoriek hovädzieho mletého mäsa s prídavkom extraktu z čierneho korenia.

Table 1. Survey and indication of model samples of beef ground meat with addition of extract from black pepper.

F ₀ [min]	Aditíva + suspenzia spór <i>B.subtilis</i> ¹ [10 ⁴ .g ⁻¹]				
	NaCl	PIPERÍN ²			
	1 %	0,002 %	0,004 %	0,008 %	0,000 %
0,48	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅
1,02	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅
5,40	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅
-	S ³				

S - surové mäso bez aditív.

1 - Additive + spore suspension *B. subtilis*, 2 - Piperine, 3 - S - Raw meat without additives.

Koncentrácia aminokyselín bola stanovená na automatickom analyzátore aminokyselín AAA 339 fy Mikrotechna Praha, po kyslej hydrolyze vzoriek v HCl (c = 6 mol.l⁻¹) pri teplote 105 °C po dobu 24 hodín [7].

Amoniak sme stanovili mikrodifúziou v Conwayovej nádobke [7].

Obsah piperínu v pridávanom extrakte z čierneho korenia sme stanovili spektrofotomertricky pri 343 nm (ISO 5564) [8]. Etanolický extrakt z čierneho korenia bol pripravený refluxovaním za tepla, skoncentrovaný na vákuovej odparke na koncentráciu piperínu 0,2 a 0,5 % a tak pridávaný k zhomogenizovanej vzorke hovädzieho mletého mäsa na už vyššie uvedenú výslednú koncentráciu 0,002 až 0,008 %.

Výsledky a diskusia

Na posúdenie možností zníženia nevyhnutného tepelného zaťaženia počas sterilizácie mäsových konzerv sme volili pokus, ktorý umožňuje porovnať potrebnú intenzitu sterilizácie (F₀ = 5) a nižších hodnôt na základe inokulácie spórovou suspenziou *Bacillus subtilis*, sledovania ich zostatkovej koncentrácie ako aj celkového mikrobiologického obrazu vzoriek pripravených za laboratórnych podmienok. Mikrobiologické

Ta buľka 2. Výsledky analýz celkových, nebielkovinových a bielkovinových -SH skupín v modelových vzorkách hovädzieho mletého mäsa s prídavkom extraktu čierneho korenia po kombinovanej konzervácii.

Table 2. Results of analyses of total, non-proteinaceous and proteinaceous SH groups in model samples of beef ground meat with addition of extract from black pepper after combined preservation.

vzorka ¹	piperín ² [%]	Celkové -SH sk. ³			Nebielkovin. -SH ⁴			Bielkovinové -SH ⁵		
		x	s _x	Ret.	x	s _x	Ret.	x	s _x	Ret.
		[mg.kg ⁻¹]		[%]	[mg.kg ⁻¹]		[%]	[mg.kg ⁻¹]		[%]
S	-	595,40	7,82	100,0	11,57	1,61	100,0	583,84	6,07	100,0
A ₁	-	417,38	9,13	70,1	8,07	1,08	69,8	409,25	8,00	70,1
A ₂	0,002	406,63	7,98	68,3	8,61	1,24	74,4	398,02	10,02	68,2
A ₃	0,004	400,17	2,48	71,7	8,07	1,08	69,8	392,10	2,06	67,2
A ₄	0,008	427,06	2,15	72,2	9,95	0,54	85,9	392,37	3,56	67,2
A ₅	-	401,24	4,13	67,4	8,88	1,61	76,8	391,56	8,87	67,1
B ₁	-	398,02	8,78	66,9	5,92	1,08	51,2	392,14	7,99	67,2
B ₂	0,002	398,02	3,52	66,8	6,19	1,03	53,5	384,33	16,19	65,8
B ₃	0,004	398,56	11,16	66,9	6,45	1,25	55,8	392,08	10,73	67,2
B ₄	0,008	386,19	2,15	64,9	6,99	1,08	60,4	379,20	2,71	65,0
B ₅	-	405,55	3,22	68,1	7,26	1,35	62,8	398,29	2,98	68,2
C ₁	-	345,85	6,42	58,1	6,45	1,25	55,8	339,40	5,37	58,1
C ₂	0,002	361,98	8,49	60,8	4,57	0,54	39,5	357,41	8,80	61,2
C ₃	0,004	344,23	3,51	57,8	4,84	0,62	41,8	339,40	3,10	58,1
C ₄	0,008	351,76	6,69	59,1	5,91	1,08	51,1	345,84	5,33	59,2
C ₅	-	339,39	4,44	57,0	3,76	1,08	32,5	335,63	5,27	57,5

1 - Sample, 2 - Piperine, 3 - Total SH groups, 4 - Non-proteinaceous SH groups, 5 - Proteinaceous SH groups.

vyšetrenie je rozhodujúce pre možné odporúčania pre zníženie sterilizačného zákroku v prípade pozitívneho účinku extraktu z čierneho korenia na termodeštrukciu sledovaných mikroorganizmov. Mikrobiologické vyšetrenie skúmaných vzoriek konzervovaných kombináciou termosterilizácie a prídavkom extraktov čierneho korenia ukázalo, že vzorky neobsahovali sledované mikroorganizmy, t.j. vzorky zodpovedali hygienickým požiadavkám. Tieto výsledky svedčia o dobrej baktericídnej účinnosti fytoncídov čierneho korenia a sú v súlade s výsledkami, ktoré sme publikovali [11].

Druhým kritériom úrovne termosterilizácie je stupeň poškodenia dôležitých látok. V predkladanej práci sme sa zamerali na sledovanie zmien koncentrácie sulfhydrylových skupín a to celkových, bielkovinových a nebielkovinových aminokyselín a tvorbu amoniaku. Výsledky stanovenia celkových, bielkovinových a nebielkovinových -SH skupín sú zhrnuté v tab.2. Koncentrácia jednotlivých sledovaných -SH skupín vo vstupnej surovine bola stanovená v korelácii s publikovanými údajmi [9]. Ukázalo sa že rozhodujúci vplyv na retenciu -SH skupín má intenzita termosterilizácie, t.j. nezistili sme evidentný vplyv prídavku extraktu čierneho korenia na ich stabilizáciu. Výsledky taktiež korelujú s výsledkami, ktoré sme publikovali [10]. S rastúcou intenzitou záhrevu dochádzalo k zvýšeniu úbytku -SH skupín. Pôsobením tepla dochádza k oxidácii sírnych amínokyselín, pričom v živočíšnom tkanive ich tvorí cysteín a glutation. Zo sulfhydrylových skupín a sírnych aminokyselín sa tvorí sulfán, merkaptány, tioétery, ako aj veľký počet heterocyklických, zväčša ľahko prchavých sírnych zlúčenín. Ich koncentrácia do určitej miery vytvára vôňu typickú pre tepelne upravené mäso, avšak zvýšená koncentrácia sulfánu, či merkaptánu ovplyvňuje arómu skôr negatívne, čo sme zaznamenali najmä pri vzorkách sterilizovaných na hodnotu $F_0 = 5,4$.

Koncentráciu zastúpenia jednotlivých aminokyselín vo vzorkách hovädzieho mletého mäsa sme stanovili po kyslej hydrolýze ionexovou chromatografiou podľa Spackmana, Moora Steina na automatickom analyzátore aminokyselín AAA 339. V hydrolyzátach sme stanovili 17 aminokyselín, z toho 7 esenciálnych. Z esenciálnych aminokyselín vplyvom termosterilizácie na hodnotu $F_0 = 5,4$ (vzorky $C_1 - C_5$) (tab.3.), došlo k zníženiu koncentrácie leucínu, lyzínu, tyrozínu a cystínu. Vplyvom kombinovanej konzervácie termosterilizácie a prídavku extraktu z čierneho korenia s koncentráciou piperínu vo vzorkách 0,002 -

Tabuľka 3. Výsledky analýz aminokyselín v modelových vzorkách mletého mäsa s prídavkom piperínu po kombinovanej konzervácii [g.kg⁻¹].

Table 3. Results of analyses of amino acids in model samples of ground meat with addition of piperin after combined preservation [g.kg⁻¹].

AMK ¹	Sur. hov. mäso ²	Sterilizované hovädzie mäso - x ³							
		A ₁	A ₂	A ₄	A ₅	C ₁	C ₂	C ₄	C ₅
Leucín	16,33	16,27	16,53	16,51	16,64	14,95	15,05	15,40	15,49
Izoleucín	7,05	7,41	7,44	7,69	7,12	7,25	7,78	7,58	7,42
Lyzín	16,60	16,62	16,03	16,70	16,52	15,82	15,89	15,21	15,54
Valín	7,50	7,45	7,29	6,89	7,09	7,43	7,45	7,02	7,26
Fenylalanín	7,35	7,69	7,82	7,35	7,35	7,01	7,59	7,04	7,59
Treonín	7,57	7,52	7,33	7,17	7,21	7,49	7,60	7,89	7,28
Metionín									
S EAMK	67,35	67,29	66,65	66,83	66,21	64,07	66,03	65,02	65,54
Tyrozín	6,90	6,08	6,01	6,12	6,23	7,21	6,82	6,57	7,00
Cystín	1,16	0,98	1,03	0,88	1,03	0,84	0,82	0,98	0,95
Histidín	8,69	7,96	8,06	7,91	7,95	8,31	8,98	8,65	8,87
Arginín	13,05	11,51	11,57	11,79	11,78	11,09	12,00	12,02	11,81
Serín	7,94	7,07	7,09	7,16	7,03	6,61	6,41	6,62	6,82
Prolín	11,98	11,24	11,17	11,73	11,90	10,18	10,50	11,05	11,25
Glycín	14,34	10,29	10,30	10,45	9,82	8,90	8,99	9,49	8,59
Alanín	12,14	10,59	10,80	10,64	10,65	11,06	11,17	11,67	10,94
Kys.aspar.	17,69	15,40	16,02	15,46	15,94	15,49	15,48	15,00	16,05
Kys.glutám.	25,69	25,40	25,56	25,39	25,56	25,10	25,10	24,28	24,41
S OAMK	104,79	106,27	106,33	106,69	119,58	106,49	107,61	107,53	107,6

1 - Amino acid, 2 - Raw beef meat, 3 - Sterilized beef meat - x.

0,008 % nedošlo k preukazateľným zmenám jednotlivých aminokyselín. Suma esenciálnych aminokyselín poklesla pri hodnote $F_0 = 0,48$ o 0,5 - 1,1 g.kg⁻¹ a suma ostatných aminokyselín o 12 - 13 g.kg⁻¹. Pri termosterilizácii na hodnotu $F_0 = 5,4$ (vzorky C) poklesli esenciálne aminokyseliny o 1,3 - 3,3 g.kg⁻¹ a ostatné aminokyseliny o 13 - 15 g.kg⁻¹ vzorky hovädzieho mletého mäsa. Zaujímavé sú výsledky tvorby amoniaku. Vplyvom použitej konzervácie došlo k očakávanému vzrastu koncentrácie amoniaku vo vzorkách hovädzieho mletého mäsa a to s intenzitou termosterilizácie. Pri sterilizačnom činku $F_0 = 0,48$ o 135 - 197 % v porovnaní so vzorkou surového mäsa a pri hodnote $F_0 = 5,4$ o 285 - 348 %. Vo vzorkách s prídavkom extraktu z čierneho korenia s koncentráciou piperínu 0,002 a 0,008 % bol prírastok amoniaku nižší (tab.4.). Najvyšší prírastok amoniaku sme zaznamenali vo vzorkách pripravených bez piperínu a vysterilizovaných na hodnotu $F_0 = 5,4$ (vzorky C₅) - 347,7 %. Napriek limitujúcemu faktoru možnosti stanovenia amoniaku touto metódou sa ukázalo, že by bolo potrebné túto skutočnosť

Tabuľka 4. Výsledky analýz amoniaku v modelových vzorkách hovädzieho mletého mäsa s prídavkom extraktu čierneho korenia po kombinovanej konzervácii [mg.kg⁻¹].
Table 4. Results of analyses of ammonia in model samples of ground meat with addition of extract from black pepper after combined preservation [mg.kg⁻¹].

vzorka ¹	F_0	Piperín ²	x	s _x	Prírastok ³
	[min]	[%]	[mg.kg ⁻¹]	[mg.kg ⁻¹]	[%]
S	-	-	83,6	2,37	
A ₁	0,48	-	242,8	42,99	190,3
A ₂	0,48	0,002	204,9	4,34	145,1
A ₄	0,48	0,008	197,3	11,78	135,9
A ₅	0,48	-	248,7	14,47	197,5
C ₁	5,4	-	328,9	25,28	293,4
C ₂	5,4	0,002	345,9	36,42	313,8
C ₄	5,4	0,008	322,1	26,81	285,3
C ₅	5,4	-	374,3	32,62	347,7

1 - Sample, 2 - Piperine, 3 - Increase.

skúmať podrobnejšie a to aj v nadväznosti na zmeny ostatných dusíkatých látok, prinajmenšom však na zmeny voľných aminokyselín.

Záverom možno konštatovať, že využitie extraktu čierneho korenia na zníženie potrebného sterilizačného zákroku pri zachovaní požadovanej úrovne hygieny a sanitácie je perspektívne, pričom však odporúčanie na minimálnu hodnotu F_0 je potrebné zvážiť v súlade s potrebnou bezpečnosťou potravín.

Literatúra

1. SALZER, U.J. - BROKER, U. - KLIE, H.F. - LIEPE, H.U.: Fleischwirtschaft, 57, 1977, s. 2011.
2. SALZER, U.J.: Fleischwirtschaft, 62, 1982, s. 885.
3. HUNTANEN, C.N.: J. Food Protec., 43, 1980, s. 195.
4. Mabrouk, S.S. - El-SHAYEB, N.M.A.: Z. Lebensm. unters. Forsch., 171, 1980, s. 344.
5. WERFEL, F. - SEDLÁKOVÁ, J. - BENEŠOVÁ, L.: Vliv některých složek potravin na stabilitu lipidů, Praha VÚP, 1971, s. 158.
6. SEDLÁK, J. - LINDSAY, R.H.: Analyt. Biochem., 25, 1968, s. 192.
7. Automatický analyzátor aminokyselin AAA 339, Návod k obsluze, Mikrotechna Praha, 1983, s. 43.
8. ISO 5564: Poivre noir et poivre blanc, entier ou en poudre Détermination de la teneur en pipérine-Méthode spectrophotométrique, 1982.
9. HOFMAN, K.: Fleischwirtsch. 59, 1979, s. 980.
10. RAJNIAKOVÁ, A. - ŠORMAN, L.: Potravinářské vědy, 1, 1983, s. 15.
11. HOZOVÁ, B. - DRDÁK, M. - RAJNIAKOVÁ, A.: Bulletin PV, 28, 1989, s. 253.

Do redakcie došlo 24.4.1994.

Application of phytoncides of black pepper in preservation of foods

Summary

This paper deals with the studying of impact of phytoncides of black pepper at combined preservation (thermo preservation - phytoncides) of beef ground meat on changes of some nutrients (sulfhydryl groups, amino acids) and with a formation of ammonia. Test sample of beef meat was contaminated artificially by a spore suspension *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ($10^4 \cdot g^{-1}$) and phytoncides of black pepper were added in the form of ethanol extract with total piperine concentration of 0.002, 0.004 and 0.008 % in it. As a consequence of preservation,

the concentration of total non-proteinaceous and proteinaceous sulphhydryl groups was reduced with the intensity of thermosterilisation. ($F_0 = 0.5, 1.0$ and 5.0). Piperine concentration had no effect on a number of -SH groups. Combined preservation caused a decrease in total amino acids content by $12.5 - 14.1 \text{ g.kg}^{-1}$ and increase in ammonia levels by 135 ($F_0 = 0.5$) up to 348 % ($F_0 = 5.4$). Samples prepared with addition of extract from black pepper showed an increment of ammonia by 60 % lower compared to the reference sample containing no additions of piperine.