

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

FAKULTA VETERINÁRNÍ HYGIENY A EKOLOGIE

**Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu
Státní veterinární správa ČR**

**Hygiena a technologie potravin
XLVIII. Lenfeldovy a Höklovy dny**



Sborník abstraktů

17. a 18. října 2018

Hygiena a technologie potravin – XLVIII. Lenfeldovy a Höklovy dny
Food Hygiene and Technology – 48th Lenfeld's and Hökl's Days

Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu
Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Recenzenti: doc. RNDr. Mária Baranová, PhD.
 doc. MVDr. Eva Dudriková, PhD.
 MVDr. Lucia Hodulová, Ph.D.
 Ing. Martina Ošťádalová, Ph.D.
 MVDr. Matej Pospiech, Ph.D.

Editace: Doc. MVDr. Bohuslava Tremlová, Ph.D.
 Mgr. Zdeňka Javůrková, Ph.D.
 Ing. Martina Ošťádalová, Ph.D.

Za věcnou a jazykovou správnost příspěvků odpovídají autoři.

Vydání první

Copyright © 2018 Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

SPONZOŘI

PAPEI



Každý den jinak!



Lavandia
LEVANDULOVÁ FARMA

*FB Čokoládovna
Troubelice*

 **MASO·PROFIT**®

MEDIÁLNÍ PARTNER



SLOVO ÚVODEM

V říjnu letošního roku pořádá Fakulta veterinární hygieny a ekologie VFU Brno 48. ročník konference o hygieně potravin Lenfeldovy a Höklovy dny. Konference je stejně jako v minulých letech spolupřipádána Státní veterinární správou ČR a podporována vysokou a aktivní účastí pracovníků SVS ČR i krajských veterinárních správ.

Lenfeldovy a Höklovy dny jsou konferencí s mezinárodní účastí, která je zaměřena na problematiku jakosti a zdravotní nezávadnosti potravin rostlinného a živočišného původu, na aplikaci potravinového práva v dozorové činnosti státních orgánů, včetně aktuálních poznatků v oblasti hygieny veřejného stravování a gastronomie. Zároveň si i na této akci připomínáme 100. výročí založení Vysoké školy zvěrolékařské v Brně, jako první vysoké školy v samostatném Československu. Konference přináší příležitosti k setkání odborníků jak vědeckých a vzdělávacích institucí, tak dozorových orgánů a praxe. Odbornou část konference doplní přednášky o historii a vývoji zvěrolékařského vzdělávání v našich zemích, o zdolávání nález na našem území a o historii veterinární hygieny potravin.

Konference o potravinách pod názvem Lenfeldovy a Höklovy dny se pořádá na univerzitě již od r. 1968. Její název připomíná významné osobnosti historie hygieny potravin v rámci veterinární medicíny. Prof. Lenfeld i doc. Hökl prosazovali uplatňování takových principů v hygieně potravin, o které se opírá i současná evropská legislativa. Tento historický odkaz byl tradován dalšími významnými osobnostmi československé hygieny potravin a je rozvíjen v současnosti Fakultou veterinární hygieny a ekologie v oblasti pedagogické, v oblasti vědecko-výzkumné a také v dalších oblastech působení fakulty.

Vysokou úroveň a také význam konference dosvědčuje každoročně vysoký počet přihlášených účastníků. V krásném prostředí auly VFU Brno se setkají odborníci nejen z České a Slovenské republiky, ale také z dalších zemí.

Svět potravin je pestrý a tím i poměrně komplikovaný. Zároveň je to oblast, se kterou máme všichni zkušenosti; ať už jako spotřebitelé nebo v případě většiny z vás, jako odborníci na některé aspekty bezpečnosti a kvality potravin. Čeká nás řada témat k zamyšlení i k diskusi. Potkáme se starými přáteli a najdeme možná nové. K úspěšnému průběhu konference můžeme přispět všichni svojí aktivní účastí v odborné diskusi k předneseným příspěvkům nebo i příspěvkům prezentovaným formou posterů.

Věřím, že chvíle strávené na naší alma mater budou přínosné a příjemné, a že se proto budete na naši fakultu rádi vracet i v příštích letech.

V Brně dne 17. 10. 2018

doc. MVDr. Bohuslava Tremlová, Ph.D.
děkanka

Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

OBSAH

PŘEDNÁŠKY

Mikrobiální kontaminace gastronomických provozoven se zaměřením na výskyt původců alimentárního onemocnění

Bogdanovičová, K., Dorotíková, K., Křepelová, S., Strejček, J., Kameník, J., Haruštiaková, D. 11

The ways of food contamination by aluminum

Dordevic, D., Buchtová, H. 15

The proteomic study of meat product for specialized nutrition with hypolipidemic action

Chernukha, I., Kotenkova, E., Akhremko, A. 20

Management alergenů v zařízeních veřejného stravování

Janštová, B. ml., Hostovský, M., Mikšlová, K., Demjanová, D., Kameník, J., Luňáková, L. 26

The study of antimicrobial action of bioactive substances isolated from the porcine mucous membranes

Kotenkova, E.A., Polishchuk, E.K. 30

Vliv tepelné úpravy sous-vide na přežívání tkáňových cyst *Toxoplasma gondii* v mase experimentálně infikovaných prasat

Koudela, B., Dámecký, F., Kameník, J. 34

Quality and safety of Polish regional food

Migdał, W., Walczycka, M., Węsierska, E., Zajac, M., Tkaczewska, J., Kulawik, P., Migdał, Ł. 36

Fumonisy – 30 let výzkumu mykotoxinů významných pro veřejné zdraví

Ostrý, V., Ruprich, J. 40

Klíčové legislativní parametry akosti medu

Tkáč, M., Vorlová, L., Zábrodská, B. 45

POSTERY

Effect of surgical and immunological castration on antioxidants capacity of pork

Abdullah, F., Borilova, G., Steinhauserova, I. 50

Senzorické hodnotenie sušeného ovocia

Baranová, M., Strapáč, I., Ištaková, A. 54

Kvalitatívne hodnotenie malinových a jahodových sirupov

Baranová, M., Strapáč, I., Sabolová, M. 59

Dynamika obsahu mastných kyselín v mléce v průběhu skladování

Bartáková, K., Jílková, D., Vorlová, L. 66

Analýza texturálneho profilu Spišských párkov

Belej, L., Golian, J., Čurlej, J., Šnirc, M., Chomová, K. 70

Prehľad kvalitatívnych parametrov oštiepkov vyrobených na Slovensku	
Benešová, L., Golian, J., Zajác, P., Drdolová, Z., Belej, E.	75
Vývoj nových metod qPCR pro ověření kvality a autenticity potravin a krmiv	
Bořilová, G., Nesvadbová, M., Králík, P., Petráková, M.	80
Obsah biogenních aminů v pivech z českých minipivovarů	
Buňka, F., Černíková, M., Hýlková, A., Míšková, Z., Salek, R. N., Lorencová, E.	84
Vliv teploty na růst <i>Cronobacter</i> spp. v kojeneckém mléce	
Bursová, Š., Haruštiaková, D., Necidová, L.	88
Hodnocení textury ve vybraných džemech obohacených vlákninou	
Cápíková, J., Jančíková, S., Dordevic, D.	92
Sledovanie obsahu voľných mastných kyselín vo vzorkách surového kravského mlieka	
Čanigová, M., Ducková, V., Zajác, P., Remeňová, Z., Tkáčová, J.	98
Vplyv metódy izolácie na rodové zastúpenie izolátov mikroskopických vláknitých húb zo slepačích vajec	
Demjanová, S., Jevinová, P., Pipová, M., Regecová, I.	102
Stanovení fluorochinolonů UPLC-FLD: Kvalita medu na českém trhu	
Dluhošová, S., Kaniová, L., Borkovcová, I., Vorlová, L.	106
Stanovení barvy u vybraných druhů pečiva	
Doležalová, J., Kučerová, T., Dvořák, P.	110
Možnosti stanovení barvy u špekáčků a kabanosů	
Doležalová, J., Vojtíková, L., Dvořák, P.	114
Detekce <i>Staphylococcus aureus</i> v provozovnách stravovacích služeb se zaměřením na enterotoxigenní potenciál	
Dorotíková, K., Bogdanovičová, K., Kameník, J.	118
Porovnanie citlivosti biočipu a PCR Real-Time pri identifikácii živočíšnych zložiek potravín	
Drdolová, Z., Golian, J.	122
Sledovanie obsahu laktoferínu v surovom kravskom mlieku	
Ducková, V., Čanigová, M., Zajác, P., Kročko, M., Remeňová, Z.	128
Kvalita a bezpečnosť surového mlieka ako vstupnej suroviny pre výrobu syrov	
Dudriková, E.	132
Závislosť vybraných parametrov vajec na pH bielka a žĺtka	
Fašiangová, M., Bořilová, G.	136
Zmeny koncentrácie sodíka v krvi probandov vplyvom konzumácie celozrnných pekárskeho produktov	
Gažarová, M., Mrázová, J., Kolesárová, A., Chlebo, P., Kopčková, J., Lenártová, P., Bihariová, L., Mečiarová, L.	142

Vplyv konzumácie pekárskeho výrobku bez obsahu lepku na koncentrácie sodíka v krvi probandov	
Gažarová, M., Chlebo, P., Kolesárová, A., Kopčeková, J., Mrázová, J.	148
Citlivosť metód Delvotest SP a Twinsensor B voči vybraným antibiotikám	
Golian, J., Lovíšková, B., Belej, L., Šnirc, M.	154
Čajové alternatívy z pohľadu obsahu polyfenolů	
Hodulová, L., Bartlová, M., Tremlová, B.	164
Patogény mliečnej žľazy izolované z ovčieho mlieka na Slovensku	
Holko, I., Tančin, V., Tvarožková, K., Supuka, P., Supuková, A.	169
Inhibície Salmonella Typhimurium esenciálnymi olejmi z oregána a tymiánu v mletém vepřovém mase s různým obsahem tuku	
Hulánková, R.	173
Možnosti aplikace škrobového obalu pro zlepšení antioxidačních vlastností krájených jablek během skladování	
Jančíková, S., Dordevic, D.	177
Estery kyseliny ftalové v plastových nádobách pro mikrovlnný ohřev	
Jandlová, M., Jarošová, A.	181
Vplyv spôsobu prípravy základnej suspenzie na počet mikromycét vo vajciach	
Jevinová, P., Regecová, I., Demjanová, S., Pipová, M., Roba, P., Bartkovský, M.	186
Stanovenie rezíduí inhibičných látok v tkanivách brojlerových kurčiat po fortifikácii krmiva humínovými kyselinami	
Juščáková, D., Kožárová, I., Marcinčák, S.	190
Spotreba dopekaných mrazených výrobkov na Slovensku	
Kolesárová, A., Zelenáková, L., Gažarová, M., Mareček, J., Mrázová, J., Kopčeková, J., Iváková, M.	195
Konzumácia mäsa a jeho vplyv na lipidový profil u pacientov s infarktom myokardu	
Kopčeková, J., Gažarová, M., Mrázová, J., Kolesárová, A., Habánová, M., Vozárová, D.	200
Účinok skrmovania fermentovaného krmiva na priebeh postmortálnych zmien v mäse brojlerových kurčiat	
Koréneková, B., Petříková, D., Mačanga, J., Marcinčák, S., Bartkovský, M., Klemková, T.	207
Rezíduá kokcidostatík v živočíšnych produktoch hydiny	
Kožárová, I., Juščáková, D.	211
Hodnocení trestných činů § 156 a § 157 v ČR za období 2000-2017	
Král, T.	215
Využití blízké infračervené spektrometrie pro stanovení kvality masných výrobků	
Králová, M., Michalková, T., Saláková, A., Vorlová, L.	220

Mikrobiální kontaminace hotových balených pokrmů prodávaných v tržní síti v rámci ČR Křepelová, S., Dorotíková, K., Bogdanovičová, K., Kameník, J.	224
Mikroskopická stavba semen podzemnice olejné (<i>Arachis hypogaea</i> L.) Luňáková, L., Javůrková, Z., Pospiech, M., Bartlová, M., Běhalová, H., Tremlová, B.	228
Zloženie jednotlivých frakcií mlieka vo vemene bahnic a vplyv metódy zisťovania Mačuhová, L., Tančin, V., Jackuliaková, L., Uhrinčať, M., Mačuhová, J., Oravcová, M.	232
Stanovení nutričně významných prvků ve vegetariánských potravinách Macharáčková, B., Kameník, J.	236
Kvalita masla vyrábaného v mini zariadeniach určených pre malých farmárov Maľová, J., Semjon, B., Andrašková, T.	240
Biofermentované krmivo obohatené o významné polynenasýtené mastné kyseliny – vplyv na profil mastných kyselín a kvalitatívne parametre svaloviny brojlerových kurčiat Marcinčák, S., Bartkovský, M., Mačanga, J., Marcinčáková, D., Klemková, T., Čertík, M., Hudák, M.	244
Stanovení syrovátkových bílkovin v kobyším mléce metodou RP-HPLC Navrátilová, P., Borkovcová, I., Dluhošová, S., Kaniová, L., Králová, M.	248
Údržnosť pasterovaných vaječných melanží z pohľadu použitých konzervantů Necidová, L., Bursová, Š., Haruštiaková, D., Vorlová, L.	252
Rtuť v potravinách z pohľadu legislativy Novotná, K.	257
Legislativní úprava uvádění hmyzu jako potraviny na trh Novotná, K., Vošmerová, P.	261
Vliv aditiv na viskozitní vlastnosti slepičích tekutých vaječných hmot Ondrušíková, S., Nedomová, Š., Pytel, R., Kumbár, V.	265
Variabilita somatických buniek a ich vzťah k produkcii ovčieho mlieka a obsahu jeho zložiek Oravcová, M., Mačuhová, L., Uhrinčať, M., Tančin, V.	270
Štúdium priebehu zrecieho procesu v prsnej a stehennej svalovine brojlerových kurčiat Petríková, D., Koréneková B., Marcinčák, S. Kožárová, I.	274
Antimikrobiálna rezistencia stafylokokov izolovaných z mäsa bažanta obyčajného (<i>Phasianus colchicus</i>) Regecová, I., Jevinová, P., Pipová, M.	278
Vplyv vákuového balenia na kolorimetrické parametre bryndze Semjon, B., Reitznerová, A., Maľová, J., Maľa, P., Mačanga, J., Andrašková, T.	282
Identifikace živočišných druhů v potravinách a krmivech pomocí metody MOL-PCR Servusová, E., Piskatá, Z., Reslová, N., Králík, P.	286

Porovnanie vhodnosti použitia varených vajec v náleve a pasterizovanej vaječnej hmoty pri výrobe vajcového šalátu a vajcových nátierok s majonézou Ševelová, M., Golian, J.	290
Význam počtu somatických buniek v mlieku pri diagnostike mastitíd bahníc Tančín, V., Tvarožková, K., Holko, I., Uhrinčať, M., Mačuhová, L., Vršková, M., Oravcová, M.	296
Vzťah medzi elektrickou vodivosťou mlieka a počtom somatických buniek v ovčom mlieku. Uhrinčať, M., Tančín, V., Tvarožková, K., Mačuhová, M., Vršková, M., Oravcová, M.	300
Detekcia prídavku kravského mlieka v ovčom mlieku pomocou rýchlych screeningových testov Vataščinová, T., Pipová, M., Maľová, J., Dudriková, E., Baranová, M., Semjon, B.	304
Hodnocení vývoje trhu s biopotravinami v České republice Vošmerová, P., Babulová, A.	307
Mikrobiologická kvalita surového ovčieho mlieka bazénových vzoriek Vršková, M., Tančín, V., Mačuhová, L., Uhrinčať, M., Tvarožková, K.	311
Zhodnocení obsahu jodu v kravském mléce z farem Zachovalová, H., Hodulová, L., Vorlová, L.	316
Prílohy zo zemiakov – kontrola mikrobiologických kritérií počas doby ich uchovávania Zeleňáková, L., Kolesárová, A., Angelovičová, M.	320
Texturálne vlastnosti syrov vyrobených z kravského a ovčieho mlieka Zeleňáková, L., Angelovičová, M., Čanigová, M.	326
Kontaminované ruky ako potenciálna hrozba pre bezpečnosť potravín Zeleňáková, L., Kunová, S., Lopašovský, Ľ.	332
Etiológia mastitíd v produkčných chovoch dojníc a oviec situovaných v marginálnych oblastiach Slovenska Zigo, F., Takáč, L., Vasiľ, M., Zigová, M., Elečko, J.	338
HISTORICKÁ SEKCE	
Prof. MVDr. Zdeněk Matyáš, CSc. - 95. výročí narodení Ostrý, V., Ruprich, J.	343
Eradikácia bovinnej brucelózy (<i>Brucella abortus</i>) v bývalom Československu (teraz Česká republika a Slovenská republika) Šimko, Š., Buš, A., Šimko, J.	347
Eradikácia bovinnej tuberkulózy (<i>Mycobacterium bovis</i>) v bývalom Československu (teraz Česká republika a Slovenská republika) Šimko, Š., Buš, A., Šimko, J.	353
Pasterizácia mlieka v bývalom Československu (teraz Česká republika a Slovenská republika) Šimko, Š., Buš, A., Šimková, Z.	362

PŘEDNÁŠKY

**Mikrobiální kontaminace gastronomických provozoven se zaměřením
na výskyt původců alimentárního onemocnění**
*Microbial contamination at catering establishments focusing on the
occurrence of agents of alimentary diseases*

**Bogdanovičová, K.¹, Dorotíková, K.¹, Křepelová, S.¹, Strejček, J.¹, Kameník, J.¹,
Haruštíaková, D.^{2,3}**

¹Department of Gastronomy, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University
of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Brno, Czech Republic

²Institute of Biostatistics and Analyses, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno,
Czech Republic

³Research Centre for Toxic Compounds in the Environment, Faculty of Science,
Masaryk University, Brno, Czech Republic

Souhrn

Cílem studie bylo sledování a hodnocení hygienických standardů v 11 zařízeních veřejného stravování, a to v období od dubna 2016 do listopadu 2017, se zaměřením na mikrobiologický monitoring pracovních ploch (n=298) a rukou pracovníků (n= 159). Analýza byla zaměřena na přítomnost následujících bakterií: *Escherichia coli*, se zaměřením na přítomnost patogenních druhů, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. Přítomnost *Escherichia coli* byla potvrzena u 11,8 % vzorků (pracovní plochy 12,4 %, ruce pracovníků 10,7 %; P=0,650). Přítomnost patogenní *E. coli* nebyla ve vzorcích potvrzena. *Bacillus cereus* byl ve vzorcích detekován nejčastěji, a to u celkem 39,6 % odebraných vzorků (pracovní plochy 44,6 %, ruce pracovníků 30,2 %; P=0,003). Přítomnost *Staphylococcus aureus* byla zaznamenána u 17,9 % vzorků (17,4 % pracovních ploch, ruce pracovníků 18,9 %; P=0,703). *Listeria monocytogenes* byla detekována pouze u jednoho vzorků (pracovní prostor 0,2 %). Přítomnost bakterií *Salmonella* spp. nebyla potvrzena. Výskyt bakterií *B. cereus*, *S. aureus* a *E. coli* byl závislý na ročním období, vyšší výskyt bakterie *B. cereus* byl zaznamenán v zimních měsících (jaro-léto 33,3 %, podzim-zimní 42,3 %, P = 0,077), naopak výskyt u *E. coli* byl detekován v období jaro-léto (jaro-léto 17,4 %, podzim-zimní 9,4, P = 0,018). Bakterie *B. cereus*, *S. aureus* a *E. coli* byly detekovány v téměř polovině vyšetřovaných vzorků.

Abstract

The aim of this study was to monitor and evaluate the hygienic conditions at eleven catering facilities during the period from April 2016 to November 2017, focusing on the microbiological assessment of the environment at the establishment (n = 298) and the hands of staff (n = 159). The analysis targeted the presence of the following bacteria: *Escherichia coli* focusing on the presence of STEC (Shiga toxigenic *Escherichia coli*), *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. The presence of *E. coli* was confirmed in 11.8 % of samples (12.4 % in the environment of catering establishments, 10.7 % on the hands of staff; P = 0.650). The presence of STEC was not confirmed in the samples. *Bacillus cereus* was detected most frequently in the samples – in a total of 39.6 % of samples taken (44.6 % in the environment of catering establishments, 30.2% on the hands of staff; P = 0.003). The presence of *S. aureus* was recorded in 17.9 % of samples (17.4% in the environment of catering establishments, 18.9 % on the hands of staff; P = 0.703).

Listeria monocytogenes was detected only in one sample (0.2 % in the environment of a catering establishment). The presence of *Salmonella* spp. was not confirmed. The occurrence of the bacteria *B. cereus*, *S. aureus* and *E. coli* were dependent on the season of the year. The occurrence of *B. cereus* and *S. aureus* was less frequent in the summer months, though the occurrence of *E. coli* were recorded more frequently. *Bacillus cereus*, *S. aureus*, and *E. coli* bacteria was detected in almost half of the tested samples.

Klíčová slova: *stravovací služby, hygiena, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Salmonella spp.*

Úvod

Provozovny stravovacích služeb, jako jsou restaurace, kantýny, nebo školní jídelny, patří v Evropě hned po domácnostech, na druhé místo vzniku hromadných onemocnění z potravin (EFSA, 2015; EFSA, 2017; Schlinkmann, Razum & Werber, 2017). V USA jsou restaurační zařízení dokonce na prvním místě, kde mají hromadná onemocnění z potravin svůj původ (CDC, 2017).

Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) řadí mezi důvody vypuknutí hromadných alimentárních onemocnění nedostatečné tepelné opracování potravin během přípravy pokrmů, infikované osoby manipulující s potravinou, nedostatečné chlazení, křížovou kontaminaci, použití potravin neznámého původu nebo kombinace výše popsaných faktorů (EFSA, 2015).

Cílem studie bylo zhodnotit výskyt bakterií *Escherichia coli* se zaměřením na patogenní druhy, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. a *Listeria monocytogenes* v provozovnách veřejného stravování.

Materiál a metodika

V rámci této práce jsme se zaměřili na sledování mikrobiologické kontaminace 11 provozoven veřejného stravování (1 hotelová restaurace, 3 školní jídelny, 7 kantýn=jedná cateringová společnost). Součástí monitoringu docházelo k odběru vzorků z pracovních ploch přicházejících do přímého styku s potravinami (n = 298) a rukou pracovníků provozoven veřejného stravování (n = 159). Technika odběrů vzorků byla prováděna na základě stěrů z pracovních ploch pomocí sterilní abrazivní houbičky a mikrobiologická situace rukou pracovníků byla sledována za pomoci tzv. Glove-juice testu. Vzorky byly analyzovány na přítomnost následujících bakterií:

Detekce *E. coli* byla prováděna dle ISO 16649 – 2. K detekci genů kódujících vybrané faktory virulence - *eaeA*, *hly*, *stx1* a *stx2* byla použita polymerázová řetězová reakce (PCR) (Fagan et al., 1999).

Přítomnost *Bacillus cereus* byla provedena dle ISO 7932. Konfirmace suspektních kmenů *B. cereus* byla provedena metodou polymerázové řetězové reakce (PCR), a to detekcí genu *gyrB* kódujícího podjednotku B DNA gyrasy (Yamada et al., 1999).

Přítomnost bakterie *Staphylococcus aureus* byla prováděna podle ISO 6888 - 1. Konfirmace suspektních kmenů *S. aureus* byla provedena metodou polymerázové řetězové reakce (PCR), a to detekcí specifického úseku SA442 (Martineau et al. 1998).

Přítomnost bakterie *Listeria monocytogenes* byla stanovena podle ISO 11290 – 1.

U izolátů *L. monocytogenes* byl stanoven makrorestrikční profil pomocí pulzní gelové elektroforézy. Pulzní gelová elektroforéza byla prováděna dle protokolu PulseNet Europe použitím kombinace restričních endonukleáz AscI a ApaI (Graves

and Swaminathan 2001). Výsledný makrorestrikční profil testovaného izolátu byl následně analyzován pomocí softwarového programu BioNumerics (Applied Maths, Belgie).

Salmonella spp. byla detekována podle ISO 6579.

Statistická analýza byla provedena pomocí IBM SPSS Statistics, verze 23 (IBM Corp., Armonk, NY).

Výsledky

V námi vyšetřovaných vzorcích došlo k detekování bakterie *Bacillus cereus* u celkem 39,6% sledovaných vzorků, přičemž větší záchyt byl detekován z pracovních ploch přicházejících do přímého styku s potravinami, než z rukou pracovníků (44,6 % vs. 30,2 %, Fisher's exact test $P = 0,003$). Bakterie *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* byly detekovány u celkem 17,9 % a 11,8 % vzorků. Frekvence výskytu jednotlivých bakterií se velice lišila ve sledovaných typech provozoven veřejného stravování. Nejnižší frekvence výskytu bakterie *S. aureus* byla zaznamenána v kantýnách (12,3 % oproti 24,8 % ve školních jídelnách a 29,0 % v hotelové restauraci, Fisher's exact test $P = 0,001$). Ve školních jídelnách byla naopak frekvence výskytu bakterie *E. coli* zaznamenána v nejnižším počtu (4,8 % oproti 14,9 % v kantýnách a 22,6 % v hotelové restauraci, Fisher's exact test $P < 0,001$). Frekvence obou sledovaných bakterií (*S. aureus* a *E. coli*) nezaznamenala žádný významný rozdíl mezi stěry z pracovních ploch provozoven veřejného stravování a stěrů provedených z rukou pracovníků (*S. aureus*: pracovní plochy 17,4 %, ruce 18,9 %, Fisher's exact test $P = 0,703$, *E. coli*: pracovní plochy 12,4 %, ruce 10,7 %, Fisher's exact test $P = 0,650$). Bakterie *Listeria monocytogenes* byla zaznamenána pouze v jednom (0,2 %) z vyšetřovaných vzorků a bakterie *Salmonella* spp. nebyla ve vzorcích detekována.

Na základě námi provedených analýz došlo taktéž k zjištění sezonního výskytu bakterií *B. cereus* a *E. coli*. Frekvence výskytu bakterie *B. cereus* byla vyšší na podzim a v zimě (42,3 %) než na jaře a v létě (33,3 %). Rozdíl nebyl signifikantní u všech vzorků (Fisher's exact test $P = 0,077$), ale byl významný rozdíl ve vyšetřovaných vzorcích pocházejících z rukou pracovníků provozoven (jaro-léto 8,9 % vs. podzim-zima 38,6 %, Fisher's exact test $P < 0,001$). Sezonní výskyt byl zaznamenán také u bakterie *E. coli*, u které došlo k vyšší frekvenci výskytu na pracovních plochách na jaře a v létě (20,4 %), na rozdíl od podzimu a zimy (8,8 %, Fisher's exact test $P = 0,007$).

Ve všech odběrových dnech došlo k detekování některé ze sledovaných bakterií. *B. cereus*, *S. aureus* či *E. coli* se společně vyskytovaly celkem ve 14 z 31 případů, tj. v den odběru vzorků v konkrétní provozovně veřejného stravování. Dalším častým společným výskytem byly bakterie *B. cereus* a *S. aureus*. Bakterie byly zjištěny současně na pracovních plochách, které jsou v přímém kontaktu s potravinami a na rukou pracovníků provozoven veřejného stravování ve většině dnů odběrů vzorků.

Závěr

Údaje o mikrobiologické analýze nám umožnily získat přehled o situaci v provozovnách veřejného stravování a umožnily nám poskytnout odbornou konzultaci a návrh nápravného opatření v provozovnách. Interpretace výsledků je základním předpokladem pro implementaci nápravného opatření, které by měl každý manažer provozoven veřejného stravování přijmout a zajistit tak výrobu bezpečných potravin či pokrmů. Pokud dojde k nápravným opatřením a provozovatelé potravinářských provozů

se budou snažit zajistit dostatečnou hygienu výroby a osobní hygienu pracovníků, je zde předpoklad na zlepšení situace ve veřejném stravování.

Literatura

- CDC (2017): Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2015. Annual Report. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC, 2017. Available at: <https://www.cdc.gov/foodsafety/pdfs/foodborne-outbreaks-annual-report-2015-508.pdf>
- EFSA (2015). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. EFSA Journal 2015; 13 (12): 4329.
- EFSA (2017). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. EFSA Journal 2017; 15 (12): 5077.
- Fagan, P. K., Hornitzky, M. A., Bettelheim, K. A., Djordjevic, S. P. (1999). Detection of shiga-like toxin (*stx1* and *stx2*), intimin (*eaeA*), and enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) hemolysin (EHEC *hlyA*) genes in animal feces by multiplex PCR. Applied and Environmental Microbiology, 65, 868-872.
- ISO 16649-1 (2012). Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli*. Part 1: Colony-count technique at 44 degrees C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide.
- ISO 6888-1 (560089) (2000). Microbiology of food and animal feeding stuffs, Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. Praha
- ISO 7932 (56 0092) (2005). Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of presumptive *Bacillus cereus*- Technique of calculating colonies cultivated at 30 ° C. Praha
- ISO 6579 (560088) (2003). Microbiology of food and animal feeding stuffs, Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Praha
- ISO 11290-1 (560093) (1999). Microbiology of food and animal feeding stuffs, Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*, Part 1: Detection method. Praha
- Martineau, F., Picard, F. J., Roy, P. H., Ouellette, M., Bergeron, M. G. (1998). Species - Specific and Ubiquitous DNA - Based Assays for Rapid Identification of *Staphylococcus aureus*. Journal of Clinical Microbiology, 36, 618-623.
- Schlinkmann, K. M., Razum, O., Werber, D. (2017). Characteristics of foodborne outbreaks in which use of analytical epidemiological studies contributed to identification of suspected vehicles, European Union, 2007 to 2011. Epidemiology and Infection. 145, 1231-1238.
- Yamada, S., Ohashi, E., Agata, N., Venkateswaran, K. (1999). Cloning and nucleotide sequence analysis of *gyrB* of *Bacillus cereus*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, and *B. anthracis* and their application to the detection of *B. cereus* in rice. Applied and Environmental Microbiology. 65, 1483-1490.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem IGA 233/2018//FVHE Veterinární a farmaceutické univerzity Brno.

Kontaktní adresa

Mgr. Kateřina Bogdanovičová, Ph.D., VFU, FVHE Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, e-mail: bogdanovicovak@vfu.cz

The ways of food contamination by aluminum

Dordevic, D., Buchtová, H.

University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno

Abstract

Aluminum foil is used broadly in food preparation, mainly due to its usage simplicity and manipulation in the kitchen. The simplicity of aluminum foil usage and manipulation can be seen through the facts that aluminum foil is protecting food from the direct influence of heat and consequently it is slowing or stopping food drying, or if food is cooked in water it stops dissolving. Since the usage of aluminum foil is growing the concerns about food contamination with aluminum is also increasing, and should be taken into consideration among present studies. At the present time there are not updated results about the presence of aluminum in food during preparation in aluminum foil, especially because many publically present food recipes (sources such as: internet and different culinary journals) include aluminum foil in dish preparation.

Keywords: *aluminum, food, diet, cooking*

Introduction

Aluminum is the third element the most abundant on the Earth. The main source of aluminum toxicity for humans is food. The amount of aluminum included in daily diet is affected by food included in diet. It leads to the conclusion that aluminum daily intake varies in dependence with country and population eating habits. Since certain additives can contain Al, state legislation about the usage of additives affects Al intake same as Al content in potable water (Yokel, 2012).

The intake aluminum limit in diet ranged from 7 mg/kg (in 1989) of body weight to 1 mg/kg of body weight (in 2006) and in 2011 the estimated limit calculated on kg of body weight is 2 mg/kg (WHO, 1989; Center for Food Safety, 2009; World Health Organization, 2011). Daily intake of Al very greatly among human population in different countries due to factors: 1) Al contamination of food and water; 2) different diets; 3) different recipes that include aluminum utensils and aluminum foil in food preparation. For an example Aluminum daily intake among Chinese population is calculated to be around 10 mg (Wang, Su, and Wang 1994).

Aluminum (Al) is the neurotoxin agent since it accumulates in brain, bones and liver. Higher concentrations of Al have been connected with Alzheimer's disease, Parkinson's disease and diseases like dialysis encephalopathy, bone disorder and other disorders (Al Zubaidy et al., 2011; Al Juhaiman et al., 2014; Rittirong and Saenboonruang, 2018). The studies have been conducted to evaluate human exposure to Al via food and aluminum kitchenware (Al Juhaiman et al., 2014).

When food is packed following properties of packed food product should be taken into consideration due to aluminum contamination: pH, salt concentrations, chemical composition of the food, same as expected shelf life of the food (Zurlini and Montanari, 2017).

It should be stressed out that more attention to the issue concerning food intoxication with aluminum should be paid since its high toxicity and relation with serious human disease same as the fact of the presence of many recipes that include aluminum foil in meal preparation.

Aluminum presence in the food

The reasons for aluminum presence in food can be overviewed by the board Al presence in the environment. Consequently, Al is absorbed by plants through soil and water; and it is included in the food chain. It was calculated that human's daily intake of aluminum from food ranges from 3.5 mg/kg to 10 mg/kg. Food additives also represents higher source of aluminum in human daily diet, while drinking water is estimated to represent the source as high as 0.1 m/kg (Yokel, 2012). Some of food additives containing aluminum are: aluminum metal (E173), aluminum sulfate (E520), aluminum sodium sulfate (E521), aluminum potassium sulfate (E522), aluminum ammonium sulfate (E523) (EC 1333/2008). One of the reasons why Al is present in food is also due to plant absorption of Al from soil and water (Jalbani et al., 2007).

The limit of aluminum content per week is estimated to be 1 mg/kg of body weight (EFSA, 2008). The studies have been conducted to estimate total aluminum intake in following countries: Canada and the Unites States, Europe (England and the U.K., France, Germany, Hungary, Italy, Netherlands, Portugal, Spain and the Canary Islands, Sweden, and Slovenia), Asia (China, India, Japan, and Taiwan), Australia and Brazil. The studies included following estimation methods: duplicate portion studies of composite diets, total diet studies, calculations based on the foods in a total diet study times their Al content, and market basket surveys. The aluminum intake ranges from 0.7 to 8.6 mg (Yokel, 2012). Higher Al intake was found to be among adolescents due to their higher total food intake same as the higher consumption of processed food (Yokel, 2012). Exposure to Al in the US is found to be mainly due to food additives (WHO, 1997). Aluminum daily intake among Chinese population is calculated to be around 10 mg (Wang, Su, and Wang 1994). In the Europe the situation is better due to less usage of food additives containing aluminum, especially in cereal grain products and processed cheese (Humphreys and Bolger, 1997). Aluminum is present also in staple food such as bakery products and it was found to range from 7.4 mg/kg to 70.2 mg/kg (Jalbani et al., 2007). In the study was evaluated that Al content in mixed human diet is around 10 mg/kg, while in citrus leaves is around 90 µg/g (Lopez et al., 2002). Aluminum content in food is very variable and it ranges from 0.1 mg/kg to 330 mg/kg (oysters) and from 332 mg/kg to 413 mg/kg (salads) (Scancar et al., 2004).

Aluminum food contamination during cooking

Compared with the estimated Al daily intake, older literature data are indicating that cooking utensils contribute up to 2 mg of aluminum in diet (Jorhem Haeggglund 1992). The fact is that in many countries aluminum utensils are not in broad usage anymore, but the usage of aluminum foil is actually in constant growth. The recipes that include aluminum foil is presented and applied broadly due to its easiness of usage and manipulation. The issue is explained better due to the fact that the dissolution of Al is in high relation with pH, salt content, temperature and the presence of complexing agents (Wang and Wang, 1994; Al Juhaiman et al., 2014).

The increase of aluminum concentrations during cooking were noticed in following researches:

- Chinese noodles cooked in not treated pan (Inoue et al., 1988).
- Tomato juice cooked in not treated pan (Inoue et al., 1988).
- Ground beef, potatoes and tomatoes cooked in new, conditioned and old aluminum pans (Greger et al., 1985).

- Applesauce, beef, rump roast, cabbage, cauliflower, chicken, cod, eggs and ham cooked in conditioned aluminum pans (Greger et al., 1985).
- The increased leakage of Aluminum in the presence of cardamom and NaCl (Al Juhaiman et al., 2014).
- The increased leakage of Aluminum in the presence of ascorbic, citric, and tartaric acids with and without chloride ions (Al Mayouf et al., 2008).
- Increased Al concentrations in canned foods, drinks and beverages (Nicholas et al., 2013).
- The aluminum contents in canned fresh meat (bovine, veal and pork) were not extremely low (Arvanitoyannis, 1990).
- Pureed fruit and vegetables stored in aluminum containers found to contain after a few months of storage up to 90 mg/kg aluminum concentrations (Zurlini and Montanari, 2017).
- Containers with aluminum lids of food products that have silicon layer were found to not have good corrosion resistance during food shelf life (Zurlini and Montanari, 2017).
- During cooking of acid food, aluminum is freed from the cooking pot (Scancar et al., 2004).
- During roasting and grilling aluminum passes from aluminum foil, but in dependence on meat type and used condiments (vinegar, salt, onion, etc.) (Ranau et al., 2001; Turhan, 2006).
- Aluminum in the presence of fluoride ions formed active fluoraluminum complexes which also represents a hazard for consumers (Strunecka and Patocka, 2001).
- Aluminum was transferred to red meat wrapped in aluminum foil (Turhan, 2006).

Conclusion

Aluminum content in food is getting and certainly will get more attention due to the discovered facts about aluminum content predisposition to be the cause of serious human disease. Consequently, the source of aluminum contamination will be the focus of the present and future research. Not negligible source of aluminum food contamination is certainly the transfer of aluminum during cooking processes, especially during the usage of aluminum foil.

References

- Al Juhaiman, L.A., Al-Shihry, R.A. and Al-Hazimi, H.M., 2014. Effect of Cardamom Extract on Leaching of Aluminum Cookware. *International Journal of Electrochemical Science*, 9, pp.1055-1070.
- Al Mayouf, A., Al Juhaiman, L. and Suhaybani, A., 2008. Corrosion of aluminum in ascorbic, citric and tartaric acids with and without chloride ions. *Anti-Corrosion Methods and Materials*, 55(2), pp.79-85.
- Al Zubaidy, E. A. H., F. S. Mohammad and G. Bassioni. 2011. Effects of pH, salinity and temperature on aluminum cookware leaching during food preparation. *Int. J. Electrochem. Sci.* 6: 6424-6441.
- Arvanitoyannis, I., 1990. The effect of storage of canned meat on concentration of the metals Fe, Cu, Zn, Pb, Sn, Al, Cd and Ni. *Food/Nahrung*, 34(2), pp.147-151.

Center for Food Safety. 2009. Risk Assessment Studies Report No. 35: Chemical Hazard Evaluation: Aluminum in Food. The Government of the Hong Kong Special Administrative Region, Hong Kong.

EFSA Scientific opinion: Safety of aluminium from dietary intake. The EFSA Journal, 2008: 754, 1-34.

Greger, J.L., Goetz, W. and Sullivan, D., 1985. Aluminum levels in foods cooked and stored in aluminum pans, trays and foil. *Journal of Food Protection*, 48(9), pp.772-777.

Humphreys, S., and P. M. Bolger. 1997. A public health analysis of dietary aluminium. In *Aluminium toxicity in infants' health and disease*, edited by P. F. Zatta and A. C. Alfrey. Singapore, Singapore: World Scientific.

Inoue, T., Ishiwata, H. and Yoshihira, K., 1988. Aluminum levels in food-simulating solvents and various foods cooked in aluminum pans. *Journal of agricultural and food chemistry*, 36(3), pp.599-601.

Jalbani, N., Kazi, T.G., Jamali, M.K., Arain, B.M., Afridi, H.I. and Baloch, A., 2007. Evaluation of aluminum contents in different bakery foods by electrothermal atomic absorption spectrometer. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3-4), pp.226-231.

Jorhem, L., and G. Haegglund. 1992. Aluminium in foodstuffs and diets in Sweden. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung* 194 (1):38-42.

López, F.F., Cabrera, C., Lorenzo, M.L. and López, M.C., 2002. Aluminum levels in convenience and fast foods: in vitro study of the absorbable fraction. *Science of the Total Environment*, 300(1-3), pp.69-79.

Nicholas, E.O.S. and Ukoha, P.O., 2013. Tin and aluminium concentration in canned foods, drinks and beverages sold in Nigerian markets. *Chem. Mat. Res*, 3(13), pp.32-40.

Ranau, R., Oehlenschläger, J., Steinhart, H. Aluminium levels of fish fillets baked and grilled in aluminium foil. *Food Chemistry*, 2001, 73, 1-6.

REGULATION (EC) No 1333/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on food additives.

Rittirong, A., & Saenboonruang, K. (2018). Quantification of aluminum and heavy metal contents in cooked rice samples from Thailand markets using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and potential health risk assessment. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 30(5): 372-380.

Scancar, J., Stibilj, V., Milacic, R. Determination of aluminium in Slovenian foodstuffs and its leachability from aluminium-cookware. *Food Chemistry*, 2004, 85, 151-157.

Strunecka, A. Patočka, J. Nové poznatky a toxických účincích fluoru a hliníku. *Interní medicína pro praxi*, 2001, 5, 205-208.

Turhan, S. Aluminium contents in baked meats wrapped in aluminium foil. *Meat Science*, 2006, 74, 4, 644-647.

Wang, L, D Z Su, and Y F Wang. 1994. Studies on the aluminium content in Chinese foods and the maximum permitted levels of aluminum in wheat flour products. *Biomed Environ Sci: BES* 7 (1):91-99.

WHO, International Programme on chemical safety. 1997. Aluminium. Vol. 194, Environmental Health Criteria. Geneva: World Health Organization.

World Health Organization. 1989. FAO/WHO Expert Committee Report on Food Additives: 33rd Report. WHO Technical Report Series. World Health Organization, Geneva.

World Health Organization. 2011. FAO/WHO Expert Committee Report on Food Additives: 47rd Report. WHO Technical Report Series. World Health Organization, Geneva.

Yokel, R.A., 2012. Aluminum in food—the nature and contribution of food additives. In Food Additive. InTech.

Zurlini, C., & Montanari, A. (2017). Use of impedance spectroscopy techniques in the study of corrosion resistance of peel-off aluminum foil lids for the packaging of pureed food. Progress in Organic Coatings, 105, 225-234.

Acknowledgement

The article was funded by the Internal Grant Agency 223/2018/FVHE.

Contact address

MSc. Dani Dordevic, Ph.D.

Department of Plant Origin Foodstuffs Hygiene and Technology

e-mail: dordevicd@vfu.cz

The proteomic study of meat product for specialized nutrition with hypolipidemic action

Chernukha, I., Kotenkova, E., Akhremko, A.

V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS

Abstract

The data of physico-chemical composition of canned minced meat product for specialized nutrition are presented. Novel meat product is characterized by high content of proteins, low content of fat and low atherogenic index (0.43). The proteomic study of native raw materials, meat product before and after sterilization was carried out. Tissue-specific proteins were identified with two-dimensional electrophoresis with mass-spectrometry. It was shown that during the homogenization, galectin-1 and a fatty acids binding protein were detected in lower amount, but after sterilization there were only the fatty acids binding protein. Results of *in vivo* research demonstrated the preservation of functional properties of the product: the degree of lipids in blood of rats with hyperlipidemia was decreased during intaking of the product for 42 days. The developed product is advisable to recommend for people with the possibility of developing hyperlipidemia and atherosclerosis.

Keywords: *tissue-specific proteins, functional meat product, hyperlipidemia, cholesterol*

Introduction

In recent years consumers are mostly paying attention to “healthy” products which must respond to a wide range of requirements based on health strengthening, organic origin, and absence of synthetic additives. Thus, a public opinion poll conducted by the Allensbach Institute showed that in the consumer’s minds a healthy eating is associated with a number of needs (consumption of a large number of fresh vegetables and greens, products with a low level of fat or high content of alimentary fiber, etc.).

Progressive technologies are intensively applied to food industry, among which products with functional and specialized functions are in special area of interest. Japan was the first country in the world where at the end of the 20th century the products of functional nutrition appeared. Its production in the developed countries of the world (USA, Europe, Japan) are widely spread (Lafargaand Hayes, 2014). Nowadays the distribution of functional and specialized products has been established at the legislative level in Russia.

The market of functional and specialized products in Russia is increasing steadily. Basically the products of this category are represented by milk, bakery products and confectionery, various beverages. This trend in meat industry is developing in less intensity. Nevertheless, it’s proved that meat raw materials have a huge potential in providing of population with not only essential nutrients but also a large amount of substances with certain biological, among which tissue-specific proteins and peptides play a special role (Weissetal, 2010). Thus, meat proteome is a source of bioactive peptides possessed antihypertensive, antioxidant, opioid, immunomodulating, prebiotic, mineral-binding, cholesterol-lowering and antimicrobial activity, which can be natively found in raw material or formed during the fermentative hydrolysis or technological

processing (Arihara, 2006; Udenigwe and Howard, 2013). Besides, modern methodological methods, for example proteomics, confirmed that proteome and peptide of any tissues along with constitutive, structural and functional proteins are characterized by a number of specific molecules, involved in maintaining of normal physiological condition (Ahmed et al., 2010; Bauchart et al., 2006).

Thereby, studying of by-products as source of bioactive sequences, taking part in normalisation of metabolic disorder is very important for food industry, especially for development of specialized and functional products based on its properties (Kotenkova, 2017). This article is dedicated to studying of biological properties of meat product based on porcine hearts and aortas by modern methods.

Material and methods

The objects of research were tissue of the *Sus scrofa* heart muscle and aortas, which had been frozen at minus 10 °C and got from Ltd “Velkom” (Russia). Meat product for specialized nutrition made of porcine hearts and aortas was produced on ZAO “Yoshkar-Olinskiy Myasokombinat”. Porcine hearts were chopped with a particle size of 2-3 mm and salted for 12 h. Porcine aortas were chopped with a particle size of 2-3 mm and homogenized in cutter at 3000rpm for 2-3 min. Minced hearts with the juice were quantitatively transferred in the cutter and homogenized at 3000rpm for 6-8 min (ratio of aorta to hearts 1:3). Obtained mince was packed in cans of lamister and sterilized at 115 °C, a pressure of 0.23 MPa for 40 min. Recipe composition of meat product: pork heart (64,4%), pork aorta (26,0%), starch (3,0%), table salt (0,4%), water (up to 100%).

Two-dimensional (2D) electrophoresis was performed according to the method of O’Farrell (O’Farrell, 1975) with isoelectric focusing in ampholine pH gradient (IEF-PAGE). The subsequent detection of the proteins was carried out by staining with Coomassie Brilliant Blue R-250. Identification of protein fractions was performed on DE after trypsinolysis by MALDI-TOF/MS and MS/MS mass spectrometry on Ultraflex MALDI-TOF mass spectrometer (Bruker, Germany) with UV laser (336 nm) in the positive ion mode in molecular weight range of 500-28000 Da with calibration according to known peaks of trypsin autolysis. Analysis of obtained tryptic peptides mass spectra was performed using Peptide Finger print option in Mascot software (Matrix Science, USA) with MH⁺ mass determination accuracy of 0.01%; search was performed in databases of the National Center for Biotechnology Information, USA (NCBI) (Chernukha et al., 2016).

Thirty male Wistar rats (380±20 g) aged approximately 1 year were kept in conventional standard conditions; water and feed were available ad libitum. Animals were randomly divided in 3 groups: group 1 – negative control (n=10); group 2 – positive control (n=10) and group 3 – experimental animals (n=10). Animals in group 1 (negative control) got a standard chow (Labkorm, Russia) ad libitum during the experiment. Rat model of alimentary hyperlipidemia was developed by adding cholesterol (2.0-10.0%) and fat (10.0 - 25.5%) to the standard diet and vitamin D₂ injection per os (35,000 IU/kg b.w.). After modeling, rats in group 2 (positive control) were fed with standard chow, in group 3 – meat product (8g/kg b.w.) with standard chow. On the 42nd day rats were euthanized in VETtech camera according to the rules of the animal welfare, blood samples biochemical investigations were taken (Chernukha et al., 2014; Chernukha et al., 2015).

Results and discussion

Chemical composition shown in table 1. Developed product is characterized by low calorie, as well as by high protein content with a low fat content, the proportion of carbohydrates is negligible (less than 3 %). Traditionally, in canned pork pate the protein content is 10-12 g, fat 18-24 g, and caloric content above 180 kcal. The atherogenic index (AI) is 0.43, which is lower than the average AI of the human diet, equal to 0.74 by 41.9 %, according to Lisitsyn A. B. *et al.* (2011) and other types of meat, such as lamb (0.97), beef (0.79), pork (0.52) and poultry (0.50).

Table 1: Chemical composition of meat product

Parameter	Value
Protein,%	17.53±0.95
Fat,%	3.82±0.13
Sodium chloride, %	0.305±0.015
Starch, %	2.35±0.25
Energy value per 100 g of product, cal/kJ	104.5 ± 2.64 / 437.5 ± 11.1
Atherogenic index	0.43
Σ PUFA and Σ MUFA, %	14.48±2.58
Σ SFA/Σ (MUFA + PUFA)	0.83

The proteomic study of *Sus scrofa* aorta (fig. 1A) and heart (fig. 1B), meat product before (fig. 1C) and after sterilization (fig 1D) was carried out.

It was found that in the product before sterilization pre-(1) and apolipoprotein A-1 (2) were overlap with the fraction of the heart muscle myosin light chains, peroxyredoxin-1 in mixture with transgelin (3) was not detected, and galectin-1 (6) was presented, but after heat treatment it was decomposed. In contrast, fatty acid binding protein presented the heart muscle (5) was retained both before (7) and after sterilization (8).

It was hypothesized that tissue-specific proteins could decomposed into active peptides with similar biological action, therefore meat product was tested *in vivo* studies (Chernukha *et al.*, 2018).

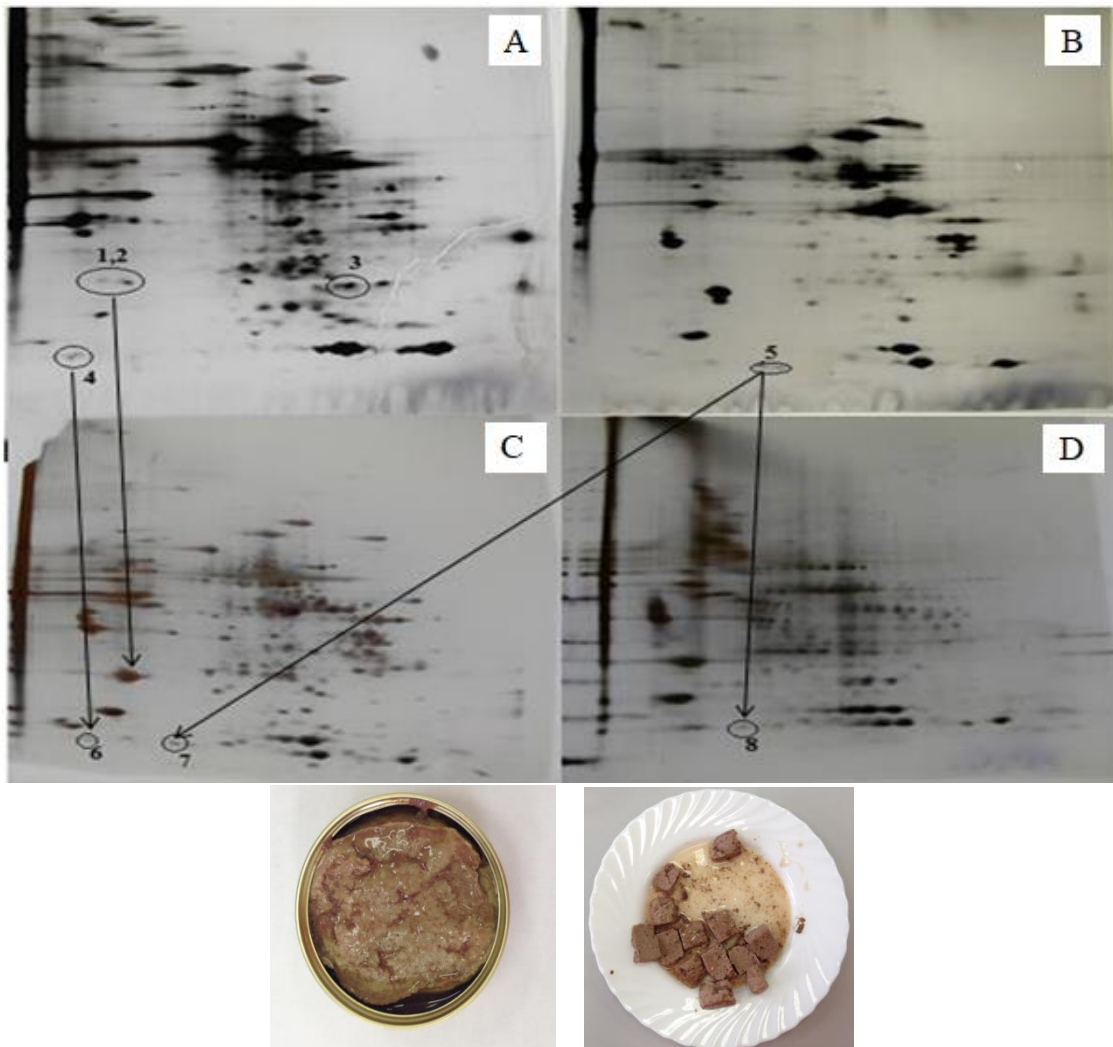


Figure 1: Aorta (A) *Sus scrofa*, heart (B) *Sus scrofa*, meat product before (C) and after (D) sterilization. Staining with silver nitrate, identified proteins are labeled by numbers (table. 2)

Table 2: The results of mass spectrometric identification (MALDI-TOF/MS and MS/MS) of protein fractions

№.№	Protein name; (Gene symbol)	S / M/ C *	mM/pI (experiment)**	mM/pI (calculation)**
1	Pre-apolipoprotein A-1 (APOA1)	177/19/51	25,0/5,00	30,0/5,47
2	Apolipoprotein A-1 (APOA1)	152/15/46	25,0/4,95	30,3/5,38
3	Mixture transgelin (TAGLN) and X5 isoform of peroxiredoxin 1 (PRDX1).	283/31/82 106/11/52	22,0/8,20	22,6/8,87 21,9/8,67
4,6	Galectin-1 (GLN1)	178/8/50	14,5/4,85	14,6/5,07
5,7,8	Fatty acid binding protein (H-FABP) (+ Acetyl (Protein N-term)	374637318	118/7/56	14,8/5,11

*S/M/C - traditional identification indicators adopted in the English literature: Score - indicator of conformity or "scorecard"; Match peptides - the number of matched peptides; Coverage - % coverage of the entire amino acid sequence of the protein by identified peptides.

** mM/pI (experiment) – scores obtained as a result of electrophoretic mobility on the DE and mM/pI (calculation) – estimates made based on amino acid sequence data with consideration of signal peptide removal, but with no consideration of other post-synthetic modifications using the ExPASy Compute pI/Mw tool software.

Developed meat product contributed to serum lipid level reduction in hyperlipidemic rats, mainly due to the decrease of chylomicrons and VLDL content, which is resulted in AI reduction by 41.3% ($P < 0.05$). Despite on the decomposition of functional protein and peptides compounds after heat treatment process, a pronounced lipid-lowering effect of the developed product was noted. This effect can be linked with protein breakdown during meat product processing and digestion processes which occur on peptides with less residual biological activity.

Conclusion

Experimental data confirmed the prospects of using by-products of farm animals for functional meat products development. Produced meat product was characterized by high content of proteins (17.53 ± 0.95 %), which is higher by more than 54 % compared with classic meat pates, low content of fat (3.82 ± 0.13 %), which is lower by 5.8 times compared with classic meat pates, as well as reduced calorie by 2.7 fold. Proteomic study results revealed a number of proteins with biological activity: pre-and apolipoprotein A-1, peroxyredoxin-1, galectin-1, fatty acids binding protein, the latter was detected after sterilization. Moreover, there was a pronounced lipid-lowering effect of the developed product, which allows it to be used as apart of maintenance therapy for people suffering from hyperlipidemia and atherosclerosis.

References

- O'Farrell, P.H. 1975. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. J. Biol. Chem., vol.250, no.10, p. 4007–4021.
- Kotenkova, E.A. 2017. The study of substances contained in porcine aorta tissues for creation of functional food additive. Issues of nutrition, biotechnology and food safety: Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology. 302 p. ISBN 978-5-9909049-1-0.

- Chernukha, I.M., Fedulova, L.V., Kotenkova, E.A. 2018. Hypolipidemic action of the meat product: in vivo study. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 12, no. 1, p. 566-569. doi: <https://doi.org/10.5219/959>
- Chernukha, I.M., Fedulova, L.V., Kotenkova, E.A. 2014. Study on the molecular-biological principles of hypolipidemic activity of cardiac and aortic tissues of pigs and cattle. *Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal*, vol. 22, no. 5, p. 22, 594–597 ref.7.
- Chernukha, I.M., Fedulova, L.V., Kotenkova, E.A. 2015. Meat by-product is a source of tissue-specific bioactive proteins and peptides against cardio-vascular diseases. *Procedia Food Science*, vol. 5, p. 50-53.
- Chernukha, I.M., Fedulova, L.V., Kotenkova, E.A., Shishkin, S.S., Kovalyov, L.I., Mashentseva, N.G., Klabukova, D.L. 2016. Influence of heat treatment on tissue specific proteins in the *Sus Scrofa* cardiac muscle and aorta. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*, vol. 8, no. 6, p. 38 – 44.
- Udenigwe, C.C., Howard, A. 2013. Meat proteome as source of functional biopeptides. *Food Research International*, vol. 54, no. 1, p. 1021–1032. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.002>
- Weiss, J., Gibis, M., Schuh, V., Salminen, H. 2010. Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Science*, vol. 86, no. 1, p. 196–213. doi: [10.1016/j.meatsci.2010.05.008](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.008).
- Lafarga, T., Hayes, M. 2014. Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation, functionality and application as functional ingredients. *Meat Science*, vol. 98, no. 2, p. 227–239. doi: [10.1016/j.meatsci.2014.05.036](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.05.036).
- Ahhmed, A.M., Muguruma, M. 2010. A review of meat protein hydrolysates and hypertension. *Meat Science*, vol. 86, no. 1, p. 110–118. doi: [10.1016/j.meatsci.2010.04.032](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.032).
- Arihara, K. 2006. Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science*, vol. 74, no. 1, p. 219–229. doi: [10.1016/j.meatsci.2006.04.028](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.028).
- Bauchart, C., Rémond, D., Chambon, C., PatureauMirand, P., Savary-Auzeloux, I., Reynès, C., Morzel, M. 2006. Small peptides (<5 kDa) found in ready-to-eat beef meat. *Meat Science*, vol. 74, no. 4, p. 658-666. doi: [10.1016/j.meatsci.2006.05.016](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.05.016).

Acknowledgements

This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 16-16-10073).

Contact address

Anastasiya Akhremko, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Experimental-clinical research laboratory of bioactive substances of animal origin, 109316, Talalikhina st., 26, Moscow, Russia, E-mail: ahremko94@gmail.com

Irina Chernukha, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Experimental-clinical research laboratory of bioactive substances of animal origin, 109316, Talalikhina st., 26, Moscow, Russia, E-mail: imcher@inbox.ru

Elena Kotenkova, V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Experimental-clinical research laboratory of bioactive substances of animal origin, 109316, Talalikhina st., 26, Moscow, Russia, E-mail: lazovlena@yandex.ru

Management alergenů v zařízeních veřejného stravování *Food allergy management among public catering*

Janštová, B. ml., Hostovský, M., Mikšlová, K., Demjanová, D., Kameník, J.,
Luňáková, L.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Osob trpících potravinovou alergií v poslední době rapidně přibývá. O tomto stavu se dokonce někdy hovoří jako o epidemii potravinové alergie. Rozhodne-li se takový člověk konzumovat pokrm mimo domov, vystavuje se potenciálnímu riziku a je tedy plně závislý na informacích, které jsou mu podány v restauraci či jiném stravovacím zařízení, které pokrm připravuje. V současné době neumíme dobře potravinovou přecitlivělost léčit, proto je pro tyto osoby důvěra ve správné označování potravin nezbytná. Je tedy nutné, aby byl spotřebitel přesně informován o složení pokrmu, aby se požití pro něho nebezpečné potraviny mohl vyvarovat. Bohužel ne vždy jsou ale zaměstnanci stravovacích zařízení, kteří manipulují s potravinami a pokrmy, dostatečně edukovaní a důslední a uváděné alergeny v pokrmu neodpovídají skutečnosti.

V rámci této práce byl proveden průzkum, kterým byla zjišťována úroveň znalostí personálu v provozovnách veřejného stravování týkající se problematiky potravinových alergií. Výsledky poukázaly na velké mezery ve znalostech personálu.

Abstract

Number of people suffering from food allergies is rapidly increasing in recent years. Sometimes is this situation referred to as an epidemic of food allergy. If a person suffering by food allergy consume food outside the home, it runs the potential risk and is therefore completely is dependent on the information given to him in a restaurant or other eating facilities that prepare food. At present, there is no treatment for food hypersensitivity. Because of that, there is confidence in the correct food labeling necessary. Consumers must get accurate information about the composition of food to avoid ingesting for him unsafe food. Unfortunately, not always is the staff in restaurants enough educated and consistent and allergens presented to be in food do not reflect reality. In this study were taken samples at different catering establishments and tested by laboratory tests to determine whether the selected allergens stated by the manufacturer, agrees. The results of our study confirmed that allergens listed in the menu do not correspond always with the real content of allergens in the food and the staff often gives false information to the customer. Our findings are consistent with results of other scientific studies dealing with the knowledge of the staff about the problems of allergens in cattering.

Part of this study was a survey. This survey determined the level of knowledge of people working in public catering. The results showed large gaps in knowledge about food allergy among the staff.

Klíčová slova: *potravinová alergie, veřejné stravování, management alergenů*

Úvod

Role restaurací a zařízení pro společné stravování v řízení alergií je obzvláště důležitá, protože prevalence potravinové alergie je na vzestupu (Lee et Sozen, 2016).

Pro osoby trpící potravinovou alergií je důvěra ve správné označování potravin a pokrmů nezbytná. Je tedy nutné, aby byl spotřebitel přesně informován o složení, aby se požití pro něho nebezpečné potraviny či pokrmu mohl vyvarovat.

I když se v jídelním lístku může zákazník dočíst, jaké alergeny pokrm obsahuje, platí to pouze tehdy, pokud je dodržována receptura a nedojde k obměně surovin. V jídelních lístcích bývá uvedena věta, že informace o obsažených alergenech poskytne obsluha na vyžádání. Je proto důležité, aby personál restauračního zařízení byl na téma alergeny řádně proškolen, aby mohl zákazníkovi podat pravdivé informace (Janštová ml. et al., 2016).

Příprava pokrmu, který je po stránce potravinové alergie bezpečný, začíná ještě před příchodem zákazníka do restaurace a zahrnuje pečlivé přezkoumání, znalost surovin a jejich segregaci a vhodné skladování (National Restaurant Association Educational Foundation, 2015). Jakmile zákazník s potravinovou alergií vstoupí do restaurace, zaměstnanec stravovacího zařízení by měl učinit maximum pro jeho spokojenost a zdraví. Existuje celá řada preventivních opatření ke zmírnění rizika, která by měla začínat konverzací s konzumentem a objasněním potravinové alergie a jeho individuálních potřeb a končit podáním pokrmu prostého alergenů (Food Allergy Research & Education, 2015).

Materiál a metodika

Pro sběr informací od personálu stravovacích zařízení byly vytvořeny soubory otázek v rámci dotazníků. Jelikož se práce personálu kuchyně značně liší od práce obsluhujícího personálu, byly vytvořeny dotazníky dva, které se v některých otázkách lišily. Výběr otázek proběhl na základě prostudování studií (Dupuis et al., 2016 a Lee & Sozen, 2016), které se zabývaly problematikou nutnosti školení personálu v oblasti alergenů.

Výsledky a diskuze

Dotazníky obsahovaly celou řadu otázek, zde v tomto příspěvku jsou uvedeny pouze některé z nich.

Otázka: Školení v oblasti potravinových alergenů

70 % dotazovaných nepodstoupilo žádné školení v oblasti alergenů.

Otázka: Upozornění na výskyt alergenů bez vyžádání

Dotazované osoby uvedly ve 100 % odpovědí, že bez vyžádání neupozorňují na výskyt alergenů v pokrmech. Jako důvod uvedli, že si zákazníci mají sami hlídat přítomnost nežádoucích alergenů, případně obsluhu upozornit.

Otázka: Počet vyjmenovaných potravin způsobující alergie

42,5 % osob vyjmenovalo 7 potravinových alergenů. Pouze 15 % osob vyjmenovalo více než 7 požadovaných alergenů. Větší problémy při zodpovězení této otázky měli zaměstnanci úseku kuchyně.

Otázka: Máte přehled o alergenech, které se vyskytují ve Vašich pokrmech?

Dotazované osoby v 85 % uvedly, že mají přehled o vyskytujících se alergenech v nabízených pokrmech. 2,5 % osob si nebylo zcela jistých a zbylých 12,5 % osob

uvedlo, že nemají přehled o vyskytujících se alergenech v nabízených pokrmech. Větší přehled o výskytu alergenů v pokrmech měla obsluha, kuchaři nevěděli.

Otázka: Křížová kontaminace

65 % osob vůbec nevědělo, co je to křížová kontaminace. 20 % dotazovaných již tento pojem někdy slyšelo, ale neví, co to znamená. 10 % osob uvedlo, že ví, co to křížová kontaminace je, ale při bližším dotazování nebylo schopno pojem dobře vysvětlit. Pouze 2,5 % personálu restaurace vědělo přesně, co to je křížová kontaminace a správně pojem vysvětlilo.

Otázka: Zavádění opatření při přípravě pokrmů neobsahující alergen

45 % osob uvedlo, že při přípravě pokrmů nezavádí žádné speciální opatření.

Studie autorů Bock, et al. (2007) monitorovala v letech 1994 až 2006 různé reakce po požití pokrmu v restauraci a zjistili, že jedno ze čtyř úmrtí bylo způsobeno anafylaktickým šokem. Ve studii Kwon et Lee (2012) zažilo 8 ze 17 účastníků ze sledované skupiny alergickou reakci po konzumaci pokrmu v restauraci. Další retrospektivní studie, provedená Lämmel et Schnadt (2009), ukázala, že ze 450 zkoumaných jedinců trpících potravinovou alergií 65 % mělo alergickou reakci po požití potravin podávané v restauracích nebo bufetech. Zařízení společného stravování a především jejich zaměstnanci hrají klíčovou roli při snižování rizika nežádoucích účinků potravinové alergie. Jejich práce vyžaduje specializované znalosti založené na zásadách HACCP (Choi et Rajagopal, 2013; Muraro et al., 2014).

Jak je patrné z výsledků naší studie, znalosti personálu nejsou uspokojivé a získaná data korespondují s výsledky studií Dupuis et al. (2016) a Lee & Sozen (2016), které byly provedené v USA a prověřovaly znalosti osob, které v restauracích přichází do styku s potravinami a pokrmy. Bylo zjištěno, že u mnohých restauračních zařízení chybí řádné školení personálu na téma alergenů. Následné prověřování znalostí odhalilo nedostačující znalosti v tomto odvětví.

Příkladem neznalostí personálu stravovacího zařízení o problematice potravinové alergie mohou být výsledky Shafie & Azman (2015), kdy polovina z respondentů netušila, že alergickou reakci může způsobit požití i malého množství potravin.

Publikace Dupuis et al, (2016) prověřovala znalosti osob, které v restauracích přichází do styku s potravinami a pokrmy. Účastníci průzkumu byli dotázáni, zda dokážou vyjmenovat 7 pravidel správné praxe pro snížení rizika alergické reakce z potravin a zda tyto pravidla dokáží aplikovat v praxi. Žádný z respondentů nebyl schopen uvést všech 7 pravidel řízení rizika alergenů v restauracích. Drtivá většina uvedla pouze jedno pravidlo.

Mezi 7 pravidel řízení alergenů v restauracích patří:

- (1) komunikace obsluhujícího personálu se zákazníkem, objasnění rizika alergické reakce a upozornění na potenciálně rizikové pokrmy, případně doporučení vhodného pokrmu,
- (2) zaznamenání alergií a komunikace individuálních potřeb zákazníka ostatním pracovníkům (kuchyně),
- (3) kontrola všech surovin a jejich etiket pro přípravu daného pokrmu, zda jsou přítomny alergenů,
- (4) použití čerstvých (nekontaminovaných) přísad a zvolení vhodného postupu přípravy, aby se zabránilo křížové kontaminaci,

- (5) dezinfekce zařízení a ploch, případně použití nástrojů speciálně označených pro přípravu pokrmů bez alergenů,
- (6) mytí rukou a/nebo výměna rukavic/oděvu před přípravou jídla pro zákazníka s alergií,
- (7) ověření objednávky a oddělené servírování.

Studie Janštové et al. (2016) se zabývala vyšetřením pokrmů z veřejného stravování. Cílem bylo zjištění, zda alergeny deklarované v jídelním lístku a informace od obsluhujícího personálu odpovídají skutečnosti. Ze všech odebraných vzorků ze stravovacích zařízení obsahovalo dle informací personálu 72 % lepek. U zbylých 28 % vzorků nebyl lepek jako alergen deklarován. Laboratorním vyšetřením bylo zjištěno, že u všech „negativních“ vzorků byl lepek detekován.

Závěr

Výsledky naší studie potvrdily, že informovanost personálu o problematice potravinových alergií v provozech veřejného stravování neodpovídá nutnému minimu. Tyto naše závěry se shodují s výsledky ostatních vědeckých studií, zabývajících se znalostmi personálu o problematice alergenů v podnicích společného stravování (Dupuis et al., 2016; Janštová et al., 2016; Lee & Sozen, 2016).

Problémem je, že dostatečně poučený personál v celé řadě našich stravovacích zařízení nepracuje, neboť majitelé restaurací šetří tam, kde se to obvykle nejméně vyplatí - na kvalitních lidech. Zdravý selský rozum přitom říká, že personál by měl vědět, co které jídlo obsahuje, a na požadavek hosta v tomto smyslu reagovat a nabídnout mu v případě potřeby jinou alternativu. Nutno korektně podotknout, že to tak také na mnoha místech funguje - ne však všude.

Řešením je tedy vzdělávání a výchova personálu v zařízeních společného stravování k uvědomění si problematiky potravinové alergie a zodpovědnému individuálnímu přístupu k zákazníkovi.

Literatura

Dostupná u autorů.

Kontaktní adresa

Mgr. Ing. Bohdana Mrňousová (Janštová) Ph.D.,
VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav gastronomie, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
e-mail: janstovabo@vfu.cz

The study of antimicrobial action of bioactive substances isolated from the porcine mucous membranes

Kotenkova, E.A., Polishchuk, E.K.

V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, 109316, Talalikhina st., 26, Moscow, Russia

Abstract

Analysis of scientific publications indicates to intensive investigation of bioactive substances derivate from animals. Urgent need of alternative safety ways for shelf life prolonging lead to intensive study of substances with antimicrobial action, especially in the last decade. The objects of the study were porcine mucous membranes of larynx, tongue, labial and nasal cavities, rectum. Antimicrobial activity was determined against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* by flow cytometry with Eva Green and PI dyes. It was found that extracts of pig mucous membranes are more active against gram-positive bacteria than gram-negative ones. The extract of the mucous membrane of the lips was more active against gram-positive bacteria, while extracts of mucous membranes of the larynx, tongue and rectum –against gram-negative bacteria.

Keywords: *antimicrobial compounds, mucous membranes, flow cytometry, Eva Green, PI*

Introduction

Food industry loss considerable amount of produced products, which account for about a third of the total mass of food products intended for human nutrition or 1.3 billion tons per year. A significant role in the level of food losses plays microbiological spoilage (Kameník, 2013). At present, the following approaches are used to prevent spoilage and prolong shelf life: technological (freezing, smoking (smoke fume), chilling, meat salting (table salt, sugar), fermentation), physical (ultrasound, gas modification), chemical treatment (sulfur dioxide and its derivatives, benzoic, sorbic, propionic, lactic, acetic, tartaric, citric, dehydroacetic acids and several their salts, esters of oxibenzoic acid). However, their use can lead either to deterioration of quality, including food value of raw material and products, or accumulation of anti-alimentary factors and loss of effectiveness of added or native biologically active components. The current situation stimulates a search for alternative approaches to increasing storability of food. The solutions can include natural substances with antimicrobial action, the existence of which has been known for more than 60 years. Antimicrobial peptides (AMPs) are the universal and evolutionary ancient components of the innate immunity, which are produced by vertebrate and invertebrate animals, plants, fungi and bacteria and exhibit activities against a wide range of gram-positive and gram-negative bacteria, molds and yeasts (Bahar and Ren, 2013; Wang *et al.*, 2010; Wang, 2014,2015). Most part of known mammalian AMPs were isolated from neutrophil granulocytes, but they were also found in the small intestine, tongue, myeloid and epithelial cells, albeit in smaller quantities. This fact allows us to consider as a source of antimicrobial substances not only the granular apparatus, but also the tissues of the mucous membranes of mammals, including farm animals. These tissues due to its border position are constantly in contact with a wide range of different biological agents, including pathogenic and opportunistic

microorganisms and viruses, agents of fungal nature, and therefore can potentially contain a set of substances with antimicrobial action.

Material and methods

The objects of the study were porcine mucous membranes of larynx, tongue, labial and nasal cavities, rectum. Antimicrobial compounds were extracted with a solution of 10 % acetic acid at a hydromodule of 1:5, stirring speed of 400 rpm, for 5 hours at (4-5) °C at LDU (Labotex, Russia). Then the extracts were centrifuged (Sigma 3K30, Germany) at 15,000 rpm and 4.0 °C, for 5 min, the supernatant was taken. The supernatant was neutralized to pH=6 with a solution of sodium hydroxide with a concentration of 4 mol/l. Next, part of the neutralized extracts were subjected ultrafiltration on centrifuge ultrafilters Amicon Ultra-4 (50kDA, Millipore).

Antimicrobial activity was determined against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. 10 µl of the sample was mixed with 90 µl culture (10⁶ cells/ml), incubated overnight in a thermostat at 37 °C. Then to 20 µl of the mixture 5 µl Eva Green (OOO Sintol, Russia) was added, 365 µl of deionized water and 10 µl DMSO (10 µl DMSO to remove the background red fluorescence), incubated in the dark for 10-15 minutes, measured living cells on a flow cytometer Guava EasyCyte (MerkMillipore). 3 µl PI (Logos Biosystems, Korea) was added to 20 µl of the mixture, 377 µl of 0.9% sodium chloride solution was added, 10-15 min were incubated in the dark, dead cells were measured on a flow cytometer Guava EasyCyte (MerkMillipore).

Results and discussion

Results of antimicrobial activity determination of native and UF samples against *Pseudomonas aeruginosa* by flow cytometry using Eva Green and PI dyes are presented in Table 1.

Table 1: Results of antimicrobial activity determination of samples against *Pseudomonas aeruginosa*

Parameters	Neutralized extracts of mucous membranes				
	larynx	tongue	labial	nasal	rectum
survived cells (in relation to control), %	186.40	203.30	265.80	109.00	212.20
dead cells (in relation to the survived cells), %	31.80	32.20	0.60	1.40	39.70
Parameters	Ultrafiltrates of extracts (Mm less than 50 kDA)				
	larynx	tongue	labial	nasal	rectum
survived cells (in relation to control), %	43.90	49.70	198.90	54.60	50.00
dead cells (in relation to the survived cells), %	11.50	3.30	0.30%	4.70	8.20

Amount of survived cells of *Pseudomonas aeruginosa* was increased almost by 2 times when added neutralized extracts to the culture, but overnight incubation culture with larynx, tongue and rectum lead to increase dead cells (stained PI) up to 40 %. Presumably, this observation could be explained AMP "packaging" into protein molecule (Abaturov, 2011), which can be used by microorganisms initially as a substrate, and only after releasing, demonstrated an antimicrobial effect. The proposed hypothesis was confirmed by the fact that such effect was not observed in ultrafilters. In addition, in some UF with removed high-molecular substances, antimicrobial activity increased. Extract ultrafiltration of mucous membranes of the larynx, tongue, nasal cavity, rectum led to an increase in activity, in the case of pork mucous membrane of the lips wasn't observed any effect on the activity.

Results of antimicrobial activity determination of native and UF samples against *Staphylococcus aureus* by flow cytometry using Eva Green and PI dyes are presented in Table 2.

Table 2: Results of antimicrobial activity determination of samples against *Staphylococcus aureus*

Parameters	Neutralized extracts of mucous membranes				
	larynx	tongue	labial	nasal	rectum
survived cells (in relation to control), %	29.60	32.40	3.30	26.50	160.70
dead cells (in relation to the survived cells), %	70.60	29.70	38.80	20.20	46.50
Parameters	Ultrafiltrates of extracts (Mm less than 50 kDA)				
	larynx	tongue	labial	nasal	rectum
survived cells (in relation to control), %	16.40	19.40	5.40	48.50	14.40
dead cells (in relation to the survived cells), %	20.20	13.20	3.80	8.30	19.70

Almost all neutralized extracts of mucous membranes demonstrated an antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, the greatest antimicrobial effect was observed in labial mucous membrane, the proportion of survived cells did not exceed 5.0 %. Amount of survived cells was increased more than 1.5 times when added rectum neutralized extracts to the culture, but amount of dead cells (stained PI) was grown up to 46.5 %. However, this sample noted a similar observation as for *Pseudomonas aeruginosa*. It is worth noting that the proportion of survived cells in all samples was significantly lower, dead cells - higher than in the experiment with *Pseudomonas aeruginosa*, indicating a higher activity of samples relative to gram-positive bacteria. Ultrafiltration only extracts of the larynx, tongue and rectum mucous membranes led to an increase in activity.

Conclusion

The antimicrobial activity of porcine mucous membranes against gram-positive and gram-negative bacteria was evaluated by flow cytometry. The results of the research showed that extracts of porcine mucous membranes are more active

against gram-positive bacteria than against gram-negative ones. Also during the experiments it was found that it is advisable to use ultrafiltration for purification from less effective high-molecular compounds. However, some AMPs can be released from higher molecular weight protein molecules and during its using by microorganisms as substrate. Therefore, it is necessary to consider the possibility of pre-enzymatic treatment for release of AMP from preproprotein molecules. In respect to gram-positive bacteria the extract of labial mucous membrane was more active, in respect to gram-negative –mucous membranes of the larynx, tongue and rectum.

References

- Abaturov, A.E. Cationic Antimicrobial Peptides of Non-Specific Respiratory Protection: Defensins and Cathelicidins. Defensins - Molecules Undergoing Renaissance (Part 1). Child's health, 2011, V.7, №34, p.161-171.
- Abaturov, A.E. Cationic Antimicrobial Peptides of Non-Specific Respiratory Protection: Defensins and Cathelicidins. Defensins - Molecules Undergoing Renaissance (Part 2). Child's health, 2011, V.5, №35, p.137-144.
- Bahar, A.A., Ren, D. Antimicrobial peptides. Pharmaceuticals (Basel), 2013, V.6, №12, p.1543-1575.
- Food losses and waste in the context of sustainable food systems. The report of Group of high-level experts on food security and nutrition, 2014, p.1-142, electronic resource: <http://www.fao.org/3/a-i3901r.pdf>.
- Kameník, J. The microbiology of meat spoilage: a review // Maso International -Journal of Food Science and Technology, 2013, P.1-9.
- Encyclopedia of Meat Sciences, Second Edition, edited M. Dikeman and C. Devine, London: Academic Press, 2014, ISBN: 9780123847317.
- The Antimicrobial Peptide Database electronic resource: <http://aps.unmc.edu/AP/main.php>.
- Wang, G., Li, X., Zasloff, M. A database view of naturally occurring antimicrobial peptides: nomenclature, classification and amino acid sequence analysis. In Wang, G. (ed.) "Antimicrobial Peptides: Discovery, Design and Novel Therapeutic Strategies". CABI, Oxfordshire, UK, 2010: P.1-21.
- UniProt Protein Database [Электронный ресурс: <http://www.uniprot.org/>. Дата обращения: 15.08.2017].
- Wang, G. Human antimicrobial peptides and proteins. Pharmaceuticals, 2014, V.7, №5, p.545-594.
- Wang, G. Improved methods for classification, prediction, and design of antimicrobial peptides. Methods in molecular biology, 2015, V.1268, p.43-66.

Acknowledgements

This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 17-76-10033).

Contact address

Kotenkova Elena Alexandrovna, Ph.D., Experimental clinical-research laboratory of biologically active substances of an animal origin, The V.M.Gorbatov All-Russian Meat Research Institute, 109316, Moscow, Talalikhina str., 26, E-mail: lazovlana92@yandex.ru

Vliv tepelné úpravy sous-vide na přežívání tkáňových cyst *Toxoplasma gondii* v mase experimentálně infikovaných prasat

Effect of sous-vide cooking method on the viability of experimentally induced Toxoplasma gondii tissue cyst in pork

Koudela, B.^{1,2}, Dámek, F., Kameník, J.¹

¹Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

²CEITEC – Středoevropský technologický institut, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Toxoplasmóza je onemocnění způsobené protozoárním intracelulárním parazitem *Toxoplasma gondii* a infekce tímto parazitem je rozšířena po celém světě. Toxoplasmóza je vysoce prioritní alimentární parazitární zoonóza v Evropě i jinde ve světě. Vzhledem k vysoké prevalenci a významu toxoplasmózy u lidí a zvířat, vyzývají WHO, FAO a EFSA k přijetí opatření. Na základě údajů z dotazníků lze 30 až 60 % humánních infekcí *T. gondii* vysvětlit konzumací nedostatečně tepelně opracovaného masa.

Metoda úpravy pokrmů sous-vide je založena na principu déletrvajícího tepelného opracování surovin působením stálou teplotou nižší, než jsou běžně užívané teploty při kulinárním zpracování. Úprava je docílena vakuovým balením surovin a uložením do vodní lázně s přesně kontrolovanou teplotou (42 °C až 70 °C) po určitou dobu. K zabezpečení zdravotní nezávadnosti takto upravovaných pokrmů je nezbytné zvolit kombinaci teploty a času, nutnou k efektivní likvidaci potencionálních patogenů. Ke stanovení bezpečnosti takto upravovaných produktů je ovšem potřeba průkazu účinku těchto kombinací na patogeny.

Předmětem naší práce bylo zkoumání vlivu různých kombinací teplot a času za použití metody sous-vide na přežívání tkáňových cyst *T. gondii* ve vepřovém mase experimentálně infikovaných prasat. K úpravě masa byly použity teploty 50, 53, 56 a 60 °C, působící po dobu 3, 6, 12, 18 a 24 hodin. Takto získané vzorky byly natráveny pomocí trávicí směsi obsahující pepsin a kyselinu chlorovodíkovou, zpracovány a použity při biologické zkoušce na myších. Ze vzorků mozků těchto myší byla extrahována DNA pomocí metody magnetické separace a provedena detekce DNA *T. gondii* metodou qPCR. Provedená studie ukazuje, že tkáňové cysty *T. gondii* byly schopné přežít i ve vepřovém mase upraveném metodou sous-vide při použité kombinaci teplot 50, 53 a 56 °C a času 3, 6, 12 a 24 hodin a teplotě 60 °C po dobu 3, 6 a 12 hodin. Výsledek této studie prokazuje, že možnost přenosu tkáňových cyst *T. gondii* v mase upraveném metodou sous-vide nelze vyloučit.

Abstract

Toxoplasmosis is a disease caused by the protozoan intracellular parasite *Toxoplasma gondii* and infection with this parasite is ubiquitous throughout the world. Toxoplasmosis is a highly prioritized yet not systematically controlled zoonotic foodborne disease in Europe and globally. Because toxoplasmosis causes high disease burden, WHO, FAO and EFSA call for an action to be taken. Based on a questionnaire data, 30%-60% of infections can be explained by meat consumption.

Sous-vide is a method of cooking where food is vacuum packed in sealed plastic pouches before cooking and then is cooked under controlled conditions of temperature.

Precise temperature control also gives us the ability to prepare food at lower temperatures than traditional cooking methods (e.g. 42 °C to 70 °C). To be able to judge the safety of such products it is important to know the effect of such treatments on the infectious agents they may contain.

The viability of *T. gondii* tissue cysts in pork from experimentally infected pigs that have been subject to different sous-vide processes has been studied in order to estimate the survival of *T. gondii* tissue cysts. Different variants sous-vide cooking parameters of temperatures (50, 53, 56 and 60 °C) and times (3; 6; 12; 18 and 24 hours) were used. Treated pork samples were digested in HCl-pepsin solution and bioassayed in mice and the DNA extracted from mice brains was processed by qPCR. Our study has shown that *T. gondii* cysts were viable in sous-vide treated pork by using temperatures 50, 53 and 56 °C for 3; 6; 12; 18 and 24 hours and at 60 °C for 3, 6 and 12 hours. The results of the present study show that transmission of *T. gondii* to consumers by sous-vide cooked pork cannot be excluded.

Klíčová slova: *humánní toxoplazmóza, Toxoplasma-safe maso, sous-vide*

Literatura

- Baldwin, D. E. 2012. Sous vide cooking: A review. *Int J Gastron Food Sci* 1: 15-30.
- EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). 2016. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA Journal* 14 (12):4634, 231 pp.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2007. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from EFSA on Surveillance and monitoring of *Toxoplasma* in humans, foods and animals. *EFSA Journal* 583: 1-64.
- FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization] 2014. Multicriteria-based ranking for risk management of food-borne parasites. Rome. 302 pp.
- Kijlstra, A., Jongert, E. 2008. Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. *Int. J. Parasitol.* 38:1359-70.
- Kijlstra, A., Jongert, E. 2009. *Toxoplasma*-safe meat: close to reality? *Trends Parasitol.* 25: 18-22.
- Opsteegh, M., Kortbeek, T.M., Havelaar, A.H., van der Giessen, J.W. 2015. Intervention strategies to reduce human *Toxoplasma gondii* disease burden. *Clin. Infect. Dis.* 60: 101-107.
- Purslow, P. 2016. Parasitic zoonoses present some risks with low-temperature cooking of pork. *Meat Sci.* 119: 14-15.

Kontaktní adresa

Prof. MVDr. Břetislav Koudela, CSc.
VFU Brno, Fakulta veterinárního lékařství
Ústav patologické morfologie a parazitologie
Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno
e-mail: koudelab@vfu.cz

Quality and safety of Polish regional food

Migdał, W.¹, Walczycka, M.¹, Węsierska, E.¹, Zając, M.¹, Tkaczewska, J.¹,
Kulawik, P.¹, Migdał, Ł.²

University of Agriculture in Krakow

¹Department of Animal Product Technology, ²Department of Genetics and Animal
Breeding,
Balicka 122, 31-149 Kraków, Poland

Abstract

There were analysed traditional smoked sausages, bought directly from producers, produced from native pigs breeds – Pulawska, Zlotnicka White and Zlotnicka Spotted. The assessment concerned: salt content, nitrates V content and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). There was also analysed the PAHs content in raw meat and sausages natural casing of sausages produced from Pulawska pigs meat. The traditional sausages prepared from meat of native breeds pigs can be recommended as traditional high quality foods with unique taste. The producers should advise consumers, on etiquette, to peel off the casings from traditionally smoked sausage and to consume the sausage without casing.

Keywords: *meat, sausage, traditional smoking, polycyclic aromatic hydrocarbons*

Introduction

Production of traditional and/or regional products is based on good quality natural raw materials originating from homeland animals breeds – the heritage of Polish agriculture (Migdał, 2015). The high value and quality of traditional products depends also on application of traditional production and preservation methods. One of the oldest methods of preservation of meats, fish, cheeses and of some fruit is traditional smoking where the source of heat and smoke is the hard wood from deciduous trees (Migdał *et al.*, 2015). The wood properly humidified is burnt in the burning chamber where above and/or at some distance the product smoked is placed at hanging sticks. In traditional smoking the smoke and heat are the effect of wood combusting (fire and smoke). The smoke is composed of a few hundred components both favorably influencing on quality of smoked product and inert for consumer health and also these which evoke doubts as healthy aspect. The formaldehyde originating from smoke when acting with meat proteins causes lowering of digestibility of too much smoked products. During smoking the important meaning, because of their properties, have phenols, which are characterized with specific odour, which builds sensory characteristics of smoked products. Also phenols show an antioxidant activity. The important components of smoke are polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), which can migrate to food directly and/or indirectly. The indirect route is absorption of these components by plants from soil, and absorption of PAHs on plants as air sediments with rain and dust (Migdał *et al.*, 2017).

The aim of this study was to analyse content of polycyclic aromatic hydrocarbons in traditional smoked sausages produced from Polish native pig breeds; in natural casing peeled from these sausages and in raw meat used for these sausages production.

Material and methods

The experimental material were traditional smoked sausages, bought directly from producers, produced from native pigs breeds – Pulawska, Zlotnicka White and Zlotnicka Spotted. The sampling was repeated five times on sausages produced from each the selected pig's breed. In sausages produced from Pulawska breed meat there was also analysed the raw material-meat and natural casing peeled from these sausages. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (benzo(a)pyrene and sum of benzo(a)pyrene, benzo(a)anthracene, benzo(b)fluorantene and chrysene) according to the HRGC-HRMS method (CZ_SOP_D06_06_180 - except chap. 11.3.3.1 - 11.3.3.7, 11.3.3.9 1, 11.3.4 (US EPA 429, ISO 11338); PAH16: Determination of polyaromatic hydrocarbons by isotope dilution method using HRGC-HRMS). Also the contents of salt and nitrites V were assessed in sausages. NaCl content was determined according to the Mohr's method (Polish standard PN ISO 1841-1:2002). Nitrate V were determined by spectrophotometry with Griess reagent, according to the Polish standard PN-74/A-82114. The arithmetic mean and standard deviation was calculated for obtained results with Statistica ver.11 licenced software.

Results and discussion

In Table 1 are presented results for chemical characteristics of analysed smoked sausages. Sausages were containing trace amounts of nitrates V and the salt content was kept in the range of limits demanded by standard. The low or traces amounts of nitrites V confirms application of traditional recipes during production process and preservation with salt and smoke used. In table 2 are presented contents of 15 polycyclic aromatic hydrocarbons in meat, sausage and natural casing (peeled) of sausages produced from Pulawska breed pigs' meat. The results obtained up today show that the meat products are characterized by high quality and safety especially in concern of content of PAHs (they fulfill the EU Commission Regulation (UE) NR 1327/2014), which could be formed, in excessive amounts during traditional smoking.

The sausage analysed without casing was characterized by low PAHs' content because they were stopped by natural casing and were peeled off with the casing. The obtained data showed that raw meat contains from 0.0 – 0.9 µg of BaP/kg. This can be the effect of contamination of soil, water and air and accumulation of PAH in the plants which are constituents of animal fodder (Kuna, 2011).

Waszkiewicz-Robak *et al.*, (2014) concluded that the overall amount of PAH which are formed during smoking of product increases when the raw material contains more fat. Moreover they reported that the amount of so called heavy PAH, which are formed during smoking, depends on the fatty acids composition of the raw material and is positively correlated with higher unsaturated fatty acids content. The natural casings are not a barrier for the PAH during smoking. Moreover, during analysis, the sausage is grinded together with the casing, which is treated as an edible part of the sausage. In order to reduce the PAH content in the meat products, processors should use the artificial casings which stop the PAH on the surface and decrease their migration into the inner layers of the product. The cellulose casing in much higher degree stops the smoke compounds from migration within the product (Migdał *et al.*, 2017). However the traditional products in artificial casing might not be accepted by the consumer. The producers should advise consumers, on etiquette, to peel off the casings from traditionally smoked sausage and to consume the sausage without natural casing. On the basis of our research and research performed by the producers, we can report

that the final effect of the smoking, thus the amount of PAH in the final product depends on number of factors, from which the most important are: raw material (research suggest that raw meat contains from 0.0–0.9 µg of BaP/kg), type of raw material and fat content, type of meat product – type of sausage, its thickness and composition have influenced both the amount of BaP and the total PAH, spices and food additives, type of casing, type of heat treatment, smoking temperature, drying degree, type and construction of the smokehouse, smoking wood – the type, hardness and humidity, smoke generation techniques – the traditional smoking is dependent on the atmospheric conditions, wood burning temperature, the sample collection method - the methods and techniques of sample collection for PAH analysis is regulated by the Commission Regulation No 836/2011, analysis methodology – accredited laboratories which analyze the PAH content in food products of animal origins use different analytical methods: gas chromatography with mass spectrophotometry or HPLC, in case of traditional smokehouses, based on natural air flow or convection, the critical point in reduction of PAH in the final product is the experience and skills of the smoker, who has to control the conditions of combustion (Migdał *et al.*, 2017).

Table 1: The chemical composition of traditional smoked sausages

Item	Chemical composition			
	Salt %	Nitrates mg kg ⁻¹ NaNO ₃	Benzo[a]- pyrene (BaP) µg kg ⁻¹	Sum 4 PAHs µg kg ⁻¹
Pork sausage (Pulawska)	1.96	2.52	2.00±0.60	9.10±0.99
Pork sausage (Zlotnicka White) P	2.12	5.48	<0.82	7.50±0.96
Pork sausage (Zlotnicka White)A	2.24	6.52	<0.90	3.70±0.30
Pork sausage (Zlotnicka Spotted)	3.65	12.42	0.860±0.258	4.86±0.48

Table 2: Content of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat, sausage and casing (µg/kg)

Polycyclic aromatic hydrocarbons	Raw meat n=5	Sausage without a casing n=5	Casing n=5
Naphtalene	<3.5	79.0±23.70	360.0±108.00
Acenaphtylene	<0.98	110.0±33.00	1100.0±330.00
Acenaphthene	<0.59	4.30±1.29	33.0±9.90
Fluorene	<1.8	26.0±7.80	270.0±81.00
Phenanthrene	<4.3	97.0±29.10	1500.0±450.00
Anthracene	<0.39	16.0±4.80	270.0±81.00
Fluoranthene	<1.20	15.0±4.50	370.0±111.00
Pyrene	<1.40	13.0±3.90	330.0±99.00
Benzo(a)anthracene	<0.39	0.96±0.288	26.0±7.80
Chrysene	<0.39	0.71±0.213	15.0±4.50
Benzo(b)fluoranthene	<0.39	<0.86	11.0±3.30
Benzo(k)fluoranthene	<0.20	<0.57	7.70±2.31
Benzo(a)pyrene	<0.39	<0.57	16.0±4.80
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	<0.20	<0.89	7.0±2.10
Dibenzo(a,h)anthracene	<0.041	<0.082	1.30±0.39
Benzo(g,h,i)perylene	<0.59	<0.57	9.50±0.285

Conclusion

The examinations results have revealed that traditionally smoked products got high quality and safety, especially as PAHs contents (fulfilled demands of UE Regulation no 1327/2014), which could origin, in big amounts, during smoking, when traditional methods of smoking are used. The traditional, smoked sausages produced from meat of native Polish pigs' breeds can be recommended as traditional high quality foods with unique taste. Polish consumers show growing interest in traditional meat products providing they are of high quality, without chemical preservatives, and first of all safe for consumption. The producers should advise consumers, on etiquette, to peel off the casings from traditionally smoked sausage and to consume the sausage without casing.

References

European Union. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. In: Official Journal of the European Union L 364/32

European Union. Commission Regulation (EU) No 836/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 333/2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs. In: Official Journal of the European Union L 88/29

European Union. Commission Regulation (EU) No 1327/2014 of 12 December 2014 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in traditionally smoked meat and meat products and traditionally smoked fish and fishery products. In: Official Journal of the European Union L 358/13

Migdał, W. (2015): Management of the quality of products of animal origin. *Przegląd Hodowlany*, 5, 1-8. (in Polish).

Migdał, W., Dudek, R., Kapinos, F., Kluska, W., Zając, M., Węsierska, E., Tkaczewska, J., Kulawik, P., Migdał, Ł., Migdał, A., Prudel, B., Pieszka, M. (2015): Traditional smoking of meat and meat products – the factors influencing the level of polycyclic aromatic hydrocarbons. In: 4th International Conference on “Trend on Meat and Meat Products Manufacturing”, Kraków, s. 97-115.

Migdał, W., Migdał, Ł., Walczycka, M., Węsierska, E., Zając, M., Tkaczewska, J., Kulawik, P. (2017): The improvement of sensory characteristics and shelf-life extension of meat regional products obtained from domestic animal breeds through usage of traditional smoking methods. *Wiadomości Zootechniczne*, LV, 5, 168–176.

Kuna, P. (2011): Zanieczyszczenia wybranych komponentów środowiska przez wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) w Dąbrowie Górniczej. *Nauka Przyroda Technologie*, 5, 4, 1-9.

Waszkiewicz-Robak, B., Szterk, A., Rogalski, M., Kruk, M., Rokowska, E., Zarodkiewicz, M., Mikiciuk, J. (2014): Wpływ procesu wędzenia wyrobów wieprzowych otrzymanych z mięsa o różnej jakości początkowej na zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2, 93, 73 – 92.

Acknowledgements

Project “*The uses and the conservation of farm animal genetic resources under sustainable development*” co-financed by the National Centre for Research and Development within the framework of the strategic R&D programme “Environment, agriculture and forestry” – BIOSTRATEG, contract number: BIOSTRATEG2/297267/14/NCBR/2016

Contact address: prof. dr hab. Władysław Migdał, University of Agriculture in Krakow, Faculty of Food Technology, Department of Animal Product Technology, ul. Balicka 122, 31-149 Kraków, Poland, e-mail: wladyslaw.migdal@urk.edu.pl

Fumonisiný – 30 let výzkumu mykotoxinů významných pro veřejné zdraví

Fumonisinins - 30 years of research on mycotoxins important for public health

Ostrý, V., Ruprich, J.

Státní zdravotní ústav v Praze, Centrum zdraví, výživy a potravin v Brně

Souhrn

Fumonisiný byly poprvé objeveny a charakterizovány v 80. letech minulého století v důsledku realizace studií ke zjištění příčiny vzniku rakoviny jícnu v Africe a studií spojených s výskytem leukoencefalomalacie u koní a plicního edému u prasat v USA. Fumonisiný jsou produkovány zejména plísněmi *Fusarium verticillioides* a *F. proliferatum* a jsou rozšířeny v celém světě. Existuje nejméně 28 různých forem fumonisinů, označovaných jako série A, B, C a P. Fumonisin B₁ patří k nejvýznamnějším z nich následován FB₂ a FB₃. Fumonisiný nejčastěji kontaminují kukuřici, ale i další plodiny. Fumonisiný jsou karcinogenní u laboratorních zvířat. Konzumace pokrmů z kukuřice kontaminované vysokými koncentracemi fumonisinů je spojena s výskytem nádorů jícnu u lidí a s vrozenými defekty neurální trubice u těhotných žen.

Abstract

Fumonisinins were the first characterized in the late 1980s, as the result of studies into the causes of esophageal cancer in Africa, coupled with outbreaks of equine leukoencephalomalacia and porcine pulmonary edema in the USA. The fumonisinins are a group of mycotoxins produced primarily by *Fusarium verticillioides* and *F. proliferatum*, although a few other *Fusarium* species also may produce them. *F. verticillioides* and fumonisinins are distributed worldwide. There are at least 28 different forms of fumonisinins, most designated as A-series, B-series, C-series, and P-series. Fumonisin B₁ is the most common and economically important form, followed by FB₂ and FB₃. Maize is the most commonly contaminated crop, and fumonisinins are the most common mycotoxins in maize, although these toxins can occur in a few other crops as well. Fumonisinins are carcinogenic to laboratory animals, and in humans, consumption of fumonisin-contaminated maize is associated with higher rates of esophageal cancer and neural tube defects.

Klíčová slova: *fumonisiný, Fusarium verticillioides, bezpečnost potravin, veřejné zdraví*

Úvod

U řady onemocnění hospodářských zvířat nebyl velmi dlouho znám jasný etiologický činitel, který způsoboval uvedená onemocnění. Podobně tomu bylo i u leukoencefalomalacie koní, onemocnění, které je známo z druhé poloviny 19. stol. a bylo poprvé popsáno na počátku 20. století v USA. Na základě empirických zjištění bylo onemocnění dávano do příčinné souvislosti s konzumací plesnivého krmiva na bázi kukuřice. Proto onemocnění dostalo název „otrava z plesnivé kukuřice“ („mouldy corn toxicosis“). V roce 1971 bylo experimentálně zjištěno, že uvedené onemocnění má

Ke stanovení fumonisinů byly používány imunochemické (ELISA), chromatografické metody (HPTLC, HPLC, GLC, LC-MS/MS) a kapilární elektroforéza (Braun a Wink, 2018).

Výskyt fumonisinů potravinách

Nejvýznamnějším zdrojem fumonisinů je kukuřice a potraviny na její bázi (např. v kukuřičné mouce, polentě, tortille). V ostatních obilovinách (např. pšenice, ječmen, rýže) se vyskytuje méně často a v nízkých koncentracích. Fumonisy byly dále stanoveny v čiroku, v jáhlech, v sóji, hrachu, chřestu, cibuli, česneku, rozinkách a fíkách. FB₂ byl detekován v kávových bobech, piniových oříscích a v červeném víně. Po konzumaci kontaminovaného krmiva hospodářskými zvířaty je výskyt reziduí fumonisinů možný v mléce a v malém množství je pravděpodobný ve vejcích, vepřových ledvinách, játrech a vepřovém mase (Braun a Wink, 2018).

Regulace fumonisinů

Fumonisy (suma FB₁ a FB₂) jsou v potravinách limitovány v nařízení Komise (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách a v novele v nařízení Komise 1126/2007 (European Union, 2006).

Tabulka 1: Maximální limity fumonisinů v potravinách

Potravina	Suma FB ₁ a FB ₂ (µg/kg)
Nezpracovaná kukuřice kromě nezpracované kukuřice určené ke zpracování mokřým mletím	4 000
Kukuřice určená k přímé lidské spotřebě, kukuřičné potraviny k přímé lidské spotřebě	1 000
Kukuřičné snídaňové cereálie a svačinky z kukuřice	800
Kukuřičné příkrmy a ostatní příkrmy určené pro kojence a malé děti	200
Mleté frakce kukuřice s velikostí částic > 500 mikronů a ostatní výrobky z mleté kukuřice s velikostí částic > 500 mikronů nepoužívané k přímé lidské spotřebě	1 400
Mleté frakce kukuřice s velikostí částic ≤ 500 mikronů a ostatní výrobky z mleté kukuřice s velikostí částic ≤ 500 mikronů nepoužívané k přímé lidské spotřebě	2 000

Toxikologické hodnocení fumonisinů

Toxické účinky fumonisinů byly experimentálně ověřeny u hospodářských a laboratorních zvířat. Bylo zjištěno, že fumonisy vyvolávají leukoencephalomalacii u koní, plicní edém prasat a nádorové onemocnění jater u laboratorních potkanů. Z dalších hospodářských zvířat byly zjišťovány toxické účinky fumonisinů v různých orgánech (např. játrech) u skotu, telat, jehňat, drůbeže a ryb a dále imunotoxické a teratogenní účinky (Savolainen, 2008).

Vzhledem k podobnosti fumonisinů se sfinganinem a sfingosinem dochází prostřednictvím fumonisinů k zástavě syntézy sfingolipidů. Fumonisy inhibují biosyntézu sfingolipidů (sfingomyelinu a glykosfingolipidů), které se vyskytují ve větším množství v mozku a v nervové tkáni a jsou potřebné pro stavbu a fyziologickou činnost buněčné stěny (Savolainen, 2008).

Po konzumaci kukuřičné tortilly a dalších kukuřičných pokrmů s koncentrací fumonisinů větší než 6000 µg/kg byl u těhotných žen v prvním trimestru těhotenství pozorován teratogenní efekt fumonisinů v důsledku narušení transportu kyseliny listové do buňky, který se projevuje defektem neurální trubice v podobě např. *spina bifida cystica* (Marasas a kol., 2004).

Fumonisy jsou podle Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny, Světové zdravotnické organizace (IARC - WHO) klasifikovány jako možné karcinogeny pro člověka (třída 2B) a jsou charakterizovány jako promotory karcinogenního procesu. Studie z JAR a Číny dokumentují možnou roli a podíl vysokých dávek fumonisinů v etiologii nádorů jícnu lidí po jejich expozici z potravin na bázi kukuřice.

SCF (Scientific Committee on Food) při Evropské komisi stanovil v roce 2003 TDI (tolerable daily intake) pro sumu FB₁, FB₂ a FB₃ 2 µg/kg t. hm. /den (SCF, 2003). Stanovená hodnota tolerovatelného denního přívodu platí v EU dodnes (EFSA, 2014). Podobně JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) stanovila v roce 2011 PMTDI (provisional maximum tolerable daily intake) pro sumu FB₁, FB₂ a FB₃ 2 µg/kg t. hm. /den na základě klíčových účinků fumonisinů na ledviny a játra (FAO/WHO, 2012).

Závěr

Fumonisy jsou i nadále předmětem odborného zájmu řady výzkumných týmů nejen ve světě, ale i u nás. V současné době se diskutují možnosti minimalizace výskytu fumonisinů v kukuřici před sklizní např. zavedením pěstování transgenní Bt kukuřice či možnosti minimalizace výskytu fumonisinů v kukuřici po sklizni např. použitím technologického postupu nixtamalizace.

Literatura

- Bezuidenhout, S.C., Gelderblom, W.C., Gorst-Allman, C.P., Horak, R.M., Marasas, W.F., Spiteller, G., Vleggaar, R. Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *J Chem Soc Chem Commun*: 1988, 743–745.
- Braun, M.S., Wink, M. Exposure, occurrence, and chemistry of fumonisins and their cryptic derivatives. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2018, vol. 17, 769-791.
- EFSA. Evaluation of the increase of risk for public health related to a possible temporary derogation from the maximum level of deoxynivalenol, zearalenone and fumonisins for maize and maize products. *EFSA J.*, 2014, vol. 12(5):3699, 61 pp. doi:10.2903/j.efsa.2014.3699
- European Union. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (Text with EEA relevance). *Off. J. Eur. Union* 2006, L364, 5–24.
- FAO/WHO. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Fumonisin. *WHO Food Additives Series*, 2012, vol. 65, 325–794.
- Frisvad, J.C., Smedsgaard, J., Samson, R.A., Larsen, T.O., Thrane U. Fumonisin B₂ Production by *Aspergillus niger*. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, vol. 55, 9727–9732.
- Gelderblom, W.C., Jaskiewicz, K., Marasas, W.F., Thiel, P.G., Horak, R.M., Vleggaar, R., Kriek, N.P. Fumonisin – novel mycotoxins with cancer promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1988, vol. 54, 1806–1811.

Marasas, W.F.O., Riley, R.T., Hendricks, K.A. et al. Fumonisin disrupt sphingolipid metabolism, folate transport, and neural tube development in embryo culture and *in vivo*: A potential risk factor for human neural tube defects among populations consuming fumonisin-contaminated maize. *J. Nutri.*, 2004, 134, 711–716.

Ostry, V., Ruprich, J. Determination of the mycotoxin fumonisins in gluten-free diet (corn-based commodities) in the Czech Republic. *Cent. Eur. J. Public Health*, 1998, 6, 57–60.

Savolainen, K. A review of the toxic effects and mechanisms of action of fumonisin B₁. *Hum. Exp. Toxicol.*, 2008, 27, 11, 799–809.

SCF (European Commission), Updated opinion of the Scientific Committee on Food on Fumonisin B₁, B₂ and B₃. SCF/CS/CNTM/MYC/28 Final, 2003,1–4.

Pozn: Další použitá a doporučená literatura je k dispozici u autora

Poděkování

Podpořeno MZ ČR – RVO („Státní zdravotní ústav – SZÚ, IČ 75010330)

Kontaktní adresa

Doc. MVDr. Vladimír Ostrý, CSc.

Státní zdravotní ústav v Praze, Centrum zdraví, výživy a potravin

Oddělení hodnocení zdravotních rizik a aplikované výživy

NRC pro mikroskopické houby a jejich toxiny v potravinových řetězcích

Palackého 3a, Brno, 612 42

e-mail: ostry@chpr.szu.cz

Kľúčové legislatívne parametre akosti medu *The Crucial Legislative Parameters of Honey Quality*

Tkáč, M., Vorlová, L., Zábrodská, B.

Ústav hygieny a technológie mlieka, FVHE VFU Brno

Súhrn

Táto práca je zameraná na analýzu aktivity diastázy, koncentrácie 5-hydroxymetyl-furfuralu (HMF), obsahu vody, kyslosti, elektrickej vodivosti a pH vzoriek medov odobraných z tržnej siete (n=50) v Brne v roku 2015 a vzoriek medov od českých včelárov (n=147) v priebehu rokov 2015 až 2016. Spomedzi vzoriek medov od českých včelárov len 4 vzorky (2,7 %) mali aktivitu diastázy nižšiu ako 8 ° Schade a iba 2 vzorky (1,4 %) mali kyslosť vyššiu ako 50 mekv/kg. V rámci medov z tržnej siete sme zaznamenali aktivitu diastázy nižšiu ako 8 ° Schade u 6 vzoriek medov a obsah HMF vyšší ako 40 mg/kg u 4 vzoriek medov. Všetky analyzované vzorky medov splnili požadovaný limit obsahu vody a elektrickej vodivosti podľa vyhlášky č. 76/2003 Sb. a Smernice Rady 2001/110/ES.

Abstract

Our study is focused on the analysis of diastase activity, 5-hydroxymethylfurfural (HMF), moisture content, free acid content, electrical conductivity and pH in the honey samples collected from markets (n=50) in Brno during the year 2015 and in the honey samples collected from Czech beekeepers (n=147) during the years 2015-2016. Among the Czech beekeepers' honey samples only 4 (2.7%) honey samples' diastase activity was lower than 8° on the Schade scale and only 2 (1.4%) honey samples' free acid content was higher than 50 milli-equivalents/kg. Among the honey samples collected from markets 6 honey samples' diastase activity was lower than 8° on the Schade scale and 4 honey samples' HMF content was higher than 40 mg/kg. All analysed samples fulfilled the moisture content and electrical conductivity according to the Decree No. 76/2003 Coll. and the Council Directive 2001/110/EC.

Kľúčové slová: *diastáza, 5-hydroxymetyl-furfural, tržná sieť, med od včelára*

Úvod

Medy predávané v tržnej sieti sú trvale problematickou komoditou s často detegovaným falšovaním či nevyhovujúcou kvalitou. Falšovanie medu zisťované zo strany Státní zemědělské a potravinářské inspekce dokonca stavia med medzi najčastejšie falšované potraviny v Českej republike (Kundriková-Burešová a Bartošová, 2018). Rovnako aj správa Európskeho parlamentu radí med medzi desiatku potravín najviac ohrozených falšovaním (Lange, 2013).

Prihliadnuc k týmto skutočnostiam sme si dali za cieľ stanoviť vybrané fyzikálne-chemické ukazovatele medov predávaných v tržnej sieti a zároveň sme si dali za cieľ stanoviť rovnaké parametre u medov od českých včelárov a zistiť, či medzi týmito dvomi skupinami medov existuje štatisticky významný rozdiel v sledovaných parametroch.

Materiál a metodika

Vybrané fyzikálne-chemické parametre sme stanovili u medov odobraných v tržnej sieti (n=50) v roku 2015 v obchodných reťazcoch v Brne. Rovnako sme analyzovali aj vzorky medov od včelárov pôvodom z Českej republiky (ČR), zo znášok rokov 2015 (n=54) a 2016 (n=93). Vzorky medov boli až do doby analýzy skladované pri teplote do +25 °C. Medy od včelárov boli uchovávané v pôvodných sklenených obaloch a medy z tržnej siete v pôvodnom spotrebiteľskom balení.

U odobraných vzoriek medov sme analyzovali nasledujúce parametre: obsah vody, elektrickú vodivosť, kyslosť, množstvo 5-hydroxymetylfurfuralu (HMF), aktivitu diastázy a pH, podľa „*Harmonised Methods of the International Honey Commission*“ (Bogdanov, 2009). K spracovaniu a štatistickému vyhodnoteniu dát bol použitý program Excel (Microsoft Corp., US) a program Unistat 5.1 (Unistat Ltd., UK).

Výsledky a diskusia

Medy-včelári 2015

Z celkového počtu analyzovaných vzoriek (n=54) tvorili kvetové medy 54 % (n=29) a medy medovicové 46 % (n=25). Rozsah a priemerné hodnoty analyzovaných parametrov sú uvedené v tabuľke č. 1. U medov kvetových sme detegovali aktivitu diastázy nižšiu ako 8 ° Schadeho u jednej vzorky (3 %), s aktivitou $7,8 \pm 0,13$ ° Schadeho. U medov medovicových sme stanovili aktivitu diastázy nižšiu ako 8 ° Schadeho u 2 vzoriek (8 %) s aktivitami $6,3 \pm 0,39$ a $7,4 \pm 0,14$ ° Schadeho. Všetky ostatné vzorky kvetových a medovicových medov splnili kritériá požadované vyhláškou č. 76/2003 Sb. a Smernicou Rady 2001/110/ES, obe v znení neskorších predpisov. Štatistickým porovnaním sme zistili štatisticky vysoko významný rozdiel ($p \leq 0,01$) v obsahu vody, vodivosti, kyslosti, HMF a pH medzi kvetovými a medovicovými medmi. Rozdiel v aktivite diastázy bol štatisticky významný ($p \leq 0,05$).

Medy-tržná sieť 2015

Vzorky medov odobrané v tržnej sieti (n=50) tvorili z 92 % medy kvetové (n=46) a zvyšných 8 % tvorili medy medovicové. Namerané hodnoty sledovaných parametrov u medov z tržnej siete sú uvedené v tabuľke č. 1. V rámci analyzovaných kvetových medov sme detegovali aktivitu diastázy nižšiu ako 8 ° Schadeho u 6 vzoriek (13 %). Aktivita diastázy týchto vzoriek sa pohybovala od $5,6 \pm 0,20$ po $7,5 \pm 0,54$ ° Schadeho. Okrem nižšej aktivity diastázy sme u 4 vzoriek (9 %) stanovili koncentráciu HMF vyššiu ako 40 mg/kg. V troch prípadoch (HMF $40,2 \pm 0,39$; $43,0 \pm 0,34$; $55,3 \pm 0,51$ mg/kg) sa jednalo o zmesi medov pôvodom z Európskej únie (EÚ) a mimo EÚ a v jednom prípade (HMF $40,1 \pm 0,45$ mg/kg) o med na obale deklarovaným pôvodom z ČR. Všetky vzorky medovicových medov splnili kritériá požadované vyhláškou č. 76/2003 Sb. a Smernicou Rady 2001/110/ES, obe v znení neskorších predpisov. Štatistickým porovnaním medov od včelárov zo znášky 2015 a medov z tržnej siete, sme zistili štatisticky vysoko významný rozdiel ($p \leq 0,01$) medzi tými skupinami medov a to v obsahu vody, HMF, vodivosti, aktivity diastázy a pH.

Medy-včelári 2016

V roku 2016 sme analyzovali spolu 93 medov od včelárov, pričom 61 % tvorili medy kvetové (n=57) a 39 % tvorili medy medovicové (n=36). Výsledky analyzovaných

parametrov sú uvedené v tabuľke č. 1. Všetky vzorky kvetových medov splnili kritériá požadované vyhláškou č. 76/2003 Sb. a Smernicou Rady 2001/110/ES, obe v znení neskorších predpisov. Spomedzi medovicových medov jedna vzorka vykazovala aktivitu diastázy nižšiu ako 8 ° Schadeho, s aktivitou 7,5 ± 0,04 ° Schadeho a u dvoch vzoriek sme zaznamenali prekročenie prípustnej hranice kyslosti medu – 50 mekv/kg, v jednom prípade o 2 mekv/kg a v druhom o 14 mekv/kg. Rovnako ako v roku 2015, tak aj v roku 2016 sme zistili štatisticky vysoko významný rozdiel ($p \leq 0,01$) v obsahu vody, vodivosti, kyslosti, HMF, pH a navyše aj v aktivite diastázy medzi medmi kvetovými a medovicovými.

Tabuľka 1: Hodnoty analyzovaných fyzikálne-chemických parametrov medov

Sledovaný parameter		Druh medu	Pôvod medu		
			Včelári '15 <i>n</i> =54	Včelári '16 <i>n</i> =93	Tržná sieť '15 <i>n</i> =50
			min-max		
Aktivita diastázy	[°Schade]	☼	7,8-26,8	10,7-31,1	5,6-18,5
		☼	6,3-21,4	7,5-24,1	10,7-21,0
$\bar{x} \pm SD$		☼	16,4 ± 5,43*	20,7 ± 4,48**	11,2 ± 3,00
		☼	13,4 ± 4,40*	15,3 ± 4,11**	16,7 ± 4,35
HMF	[mg/kg]	☼	0,4-8,9	0,2-17,9	2,1-55,3
		☼	0,1-5,4	0,2-10,4	6,5-13,9
$\bar{x} \pm SD$		☼	3,5 ± 2,39**	2,3 ± 2,66**	22,7 ± 11,68
		☼	1,3 ± 1,02**	1,3 ± 1,70**	10,7 ± 3,11
Voda	[%]	☼	15,4-19,8	14,4-19,4	15,6-19,8
		☼	13,8-17,4	14,6-19,0	15,4-16,4
$\bar{x} \pm SD$		☼	16,9 ± 1,11**	17,5 ± 1,06**	17,6 ± 0,88
		☼	15,6 ± 0,89**	16,4 ± 0,97**	16,0 ± 0,41
Elektrická vodivosť	[mS/m]	☼	12,4-78,4	13,0-73,6	13,2-77,2
		☼	81,8-118,2	80,6-133,8	97,6-157,3
$\bar{x} \pm SD$		☼	49,9 ± 20,04**	36,3 ± 16,73**	30,6 ± 14,61
		☼	96,3 ± 10,43**	96,4 ± 11,03**	122,0 ± 28,85
Kyslosť	[mekv/kg]	☼	4-31	12-38	4-36
		☼	12-40	30-64	20-36
$\bar{x} \pm SD$		☼	11 ± 6,3**	23 ± 7,4**	14 ± 6,0
		☼	17 ± 7,3**	40 ± 6,3**	29 ± 7,0
pH		☼	3,94-4,30	3,68-4,53	3,71-4,45
		☼	4,31-4,71	3,88-4,78	4,42-4,71
$\bar{x} \pm SD$		☼	4,3 ± 0,28**	4,1 ± 0,21**	4,1 ± 0,19
		☼	4,5 ± 0,14**	4,5 ± 0,18**	4,5 ± 0,13

Vysvetlivky: ☼ – kvetový med, ☼ – medovicový med, $\bar{x} \pm SD$ – priemer ± smerodajná odchýlka, HMF – hydroxymetylfurfural, ** – štatisticky vysoko významný rozdiel ($p \leq 0,01$), * – štatisticky významný rozdiel ($p \leq 0,05$)

Aktivita diastázy bola najčastejšie nedodrzaným parametrom, spomedzi hodnotených parametrov, u medov od včelárov zo znášok 2015 a 2016, nasledovaným kyslosťou. Rovnako, aj u medov z tržnej siete bola aktivita diastázy najčastejšie nedodrzaným parametrom, nasledovaným HMF. Podlimitná aktivita diastázy je jeden z najčastejšie nedodrzaných parametrov u medov predávaných v tržnej sieti spolu s vysokou koncentráciou HMF, o čo svedčia výsledky kontrolných zistení zo strany Státni

zemědělské a potravinářské inspekce (Kundříková-Burešová a Bartošová, 2018). Túto skutočnosť sme potvrdili aj v našej predchádzajúcej práci (Tkáč et al., 2018), kde sme rovnako zistili podlimitnú aktivitu diastázy ako najčastejšie nedodržený parameter u medov odobraných z tržnej siete v roku 2018. Naproti tomu u medov od včelárov nie je nízka aktivita diastázy prezentovaná ako problematický parameter medu, čo potvrdzujú výsledky analýzy medov od českých včelárov, ktorými sa zaoberali Vorlová et al. (2005); Bartáková et al. (2007 a 2011) či Halouzka et al. (2016). Rovnakí autori uvádzajú u medov od včelárov ako najčastejšie nedodržený parameter medu vyšší obsah vody (Vorlová et al., 2001 a Bartáková et al., 2011) či nezodpovedajúci súčet glukózy a fruktózy (Halouzka et al., 2016).

Med je prírodný produkt s variabilným zložením, kde hodnoty jednotlivých parametrov závisia od botanického pôvodu, geografického pôvodu či environmentálnych faktorov (Aries et al., 2016). Táto variabilita sa odzrkadlila štatistickými rozdielmi medzi kvetovými a medovicovými medmi odobranými počas rovnakého roku z rôznych oblastí ČR, tak aj štatistickými rozdielmi medzi medmi od včelárov a medmi z tržnej siete. Aktivita diastázy je parameter, ktorého hodnota závisí od viacerých faktorov. Jednými z nich sú faktory ovplyvňujúce množstvo enzýmov pridaných k nektáru včelami, ktoré závisia od fázy života včiel, celkového stavu včelej kolónie či výživy včiel. Ďalej má na aktivitu diastázy vplyv botanický pôvod medu, čerstvosť medu, podmienky skladovania, prepravy, zohrev medu či nepovolený prídavok sladidiel. Rovnako je potrebné zohľadniť prirodzený pokles aktivity diastázy v priebehu skladovania medu.

Záver

Medy od českých včelárov vynikajú svojou kvalitou. Spomedzi hodnotených parametrov vyhovelo požiadavkám vyhlášky č. 76/2003 Sb. a Smernice Rady 2001/110/ES takmer 96 % vzoriek medov od včelárov. Len 2,7 % vzoriek od českých včelárov malo nižšiu aktivitu diastázy a 1,4 % vzoriek prekročilo povolenú hodnotu kyslosti medu. Výsledky analýz medov od českých včelárov zo znašok 2015 a 2016, tak poukazujú na vysokú kvalitu produkovaných českých medov.

Medy z tržnej siete mali niekoľkonásobne vyššiu priemernú koncentráciu HMF. Najčastejším nedostatkom u týchto medov bola podlimitná aktivita diastázy, ktorej nevyhovelo 12 % vzoriek a nasledovaná bola nadlimitnou koncentráciou HMF u 8 % vzoriek. Navyše medzi medmi od českých včelárov a medmi z tržnej siete sme zistili štatisticky vysoko významný rozdiel vo väčšine nami hodnotených parametrov.

Literatúra

Dostupná u autora.

Kontaktná adresa

Mgr. Matej Tkáč

Ústav hygieny a technológie mlieka

FVHE VFU Brno

Palackého tř. 1, 612 42 Brno

e-mail: H17009@vfu.cz

POSTERY

Effect of surgical and immunological castration on antioxidants capacity of pork

Abdullah, F., Borilova, G., Steinhauserova, I.
University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno

Abstract

The aim of study was to evaluate the influence of surgical and immunological castration on antioxidant capacity in different muscles/cuts of pigs. Nine muscles/cuts (*M. serratus*, *M. longissimus dorsi*, *internal oblique*, *M. adductor*, jowl muscle, back fat, *M. triceps brachchii*, *M. biceps femoris*, *M. semitendinosus*) from four groups of pigs (surgically castrated, non-castrated, immunocastrated and sow) were analysed. Generally, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) % inhibition method was used to compare antioxidant capacity. The highest DPPH % inhibition values of pork samples were found in surgically castrated pigs whereas the lowest values were found out by non-castrated pigs. The study indicated that methods of castration have effect on antioxidant capacity of pork.

Keywords: *DPPH, castration method, pig meat, entire male*

Introduction

Castration of male piglets is represented the most common and usual method for boar taint prevention worldwide. Boar taint is unpleasant odour which caused mainly by accumulation of androstenone, skatole and lesser extent indole in adipose tissue of male pigs (Fredriksen et al. 2009). In order to improve animal welfare practice, many consumers have called to prevent castration without anaesthesia. This was the reason for the European Union to introduced Council Directive 2008/120 / EC from December 2008 to protect pigs form traditional castration and imposes condition of prolonged analgesia and/or anaesthesia during surgical castration of pigs. The oxidative stability of meat is dependent on the balance between antioxidants and pro-oxidants (such as PUFA concentration or free iron) (Florek et al. 2012). Thus, higher antioxidant content improves oxidation stability of meat. Low antioxidant levels in pig tissues which contain high PUFA proportions are due to utilization of the antioxidant to control oxidation status (Kouba et al. 2003). Previous results confirmed the higher average PUFA content in boars comparing with castrates while no difference were observed between entire males and female pigs (Pauly et al. 2012). The aim of this study is to evaluate the influence of surgical castration and immunocastration on antioxidants capacity of pork.

Material and methods

In total 50 pigs from four groups were evaluated (10 surgically castrated pigs, 20 non-castrated pigs, 10 immunocastrated pigs, and 10 sows). Double samples were taken from same location of the following muscles/cuts: 1) *M. serrtus*, 2) *M. longissimus dorsi*, 3) *internal oblique*, 4) *M. adductor*, 5) jowl muscle, 6) back fat, 7) *M. triceps brachchii*, 8) *M. biceps femoris*, 9) *M. semitendinosus*. Each sample was directly vacuum packaged after cutting the carcasses and frozen under -70 C. Free radical scavenging ability method by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) was used to determined antioxidant capacity according to Heilerova et al. (2003). Preparation

of pork extract was performed depending on Jung et al. (2010). Solution of DPPH in methanol was pipetted into a 1 cm cuvette and measured absorbance value A_0 against a blank at 515 nm by spectrophotometer. The meat extract in the amount of 0.2 ml was added onto 3.8 ml of DPPH solution in the cuvette, and the absorbance was measured after 10 minutes (A_{10}). The inhibition percentage of the DPPH radical by the samples was calculated according to the formula

$$\% \text{inhibition} = (A_0 - A_{10} / A_0) \times 100,$$

Where:

A_0 is the absorbance of the control at $t = 0$ min

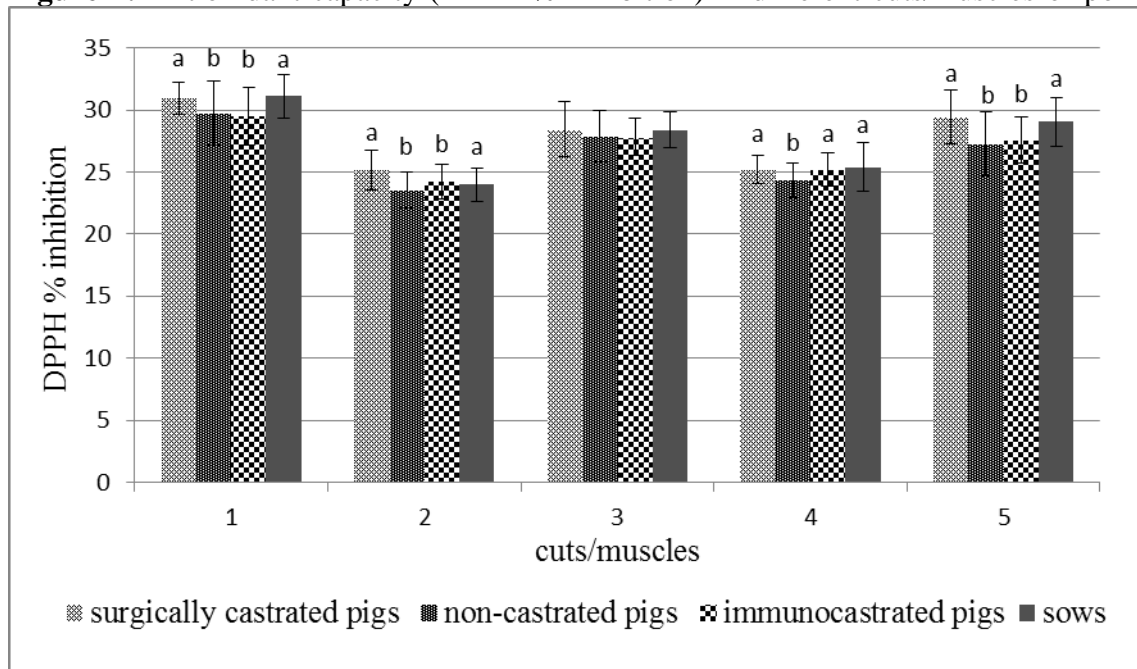
A_{10} is the absorbance of the antioxidant at $t = 10$ min

Statistical analysis of data ($P < 0.05$) between independent variances was conducted by using t-test and ANOVA analysis of variance, with post hoc Tukey test using SPSS 20 statistical software (IBM Corporation, Armonk, USA).

Results and discussion

In general, DPPH percentage inhibition values of pork samples from surgically castrated pigs were the highest and from non-castrated pigs were the lowest. In all analysed samples the antioxidant capacity (DPPH % inhibition values) of surgically castrated pigs were significantly ($P < 0.05$) higher than non-castrated pigs, except in *M. internal oblique* and *M. semitendinosus*, (Figs 1, 2).

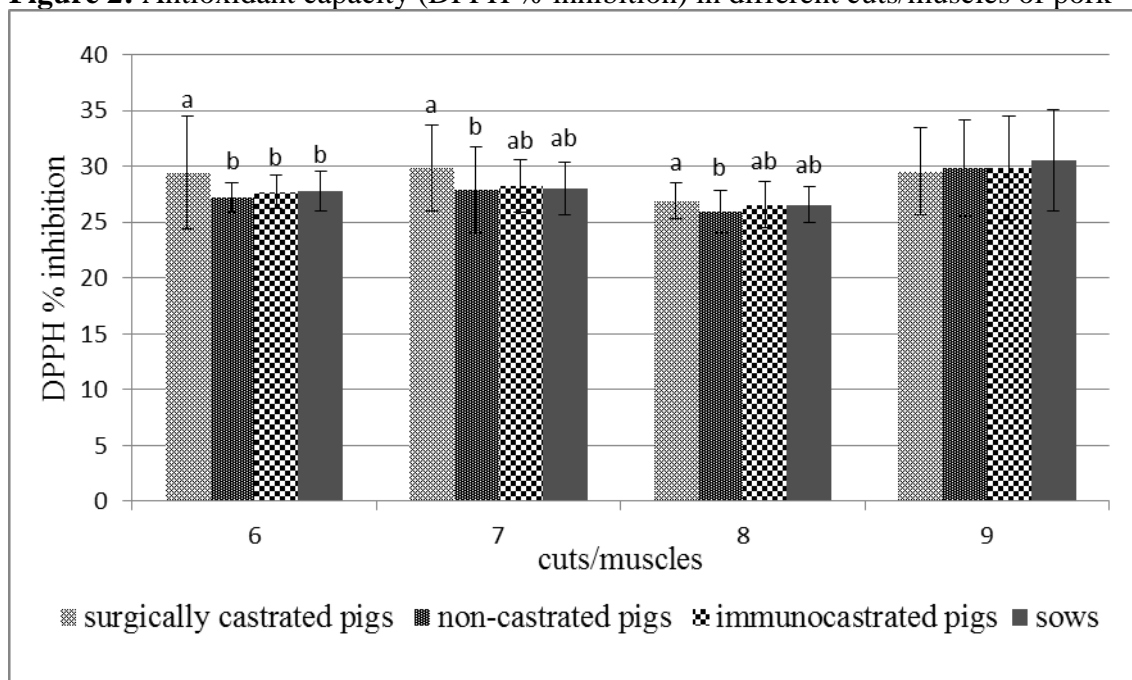
Figure 1: Antioxidant capacity (DPPH % inhibition) in different cuts/muscles of pork



1) *M. serrtus*, 2) *M. longissimus dorsi*, 3) *internal oblique*, 4) *M. adductor*, 5) jowl muscle, a–b letters are represented the strong correlation ($P < 0.05$) between evaluated groups of pork

Such difference of antioxidant capacity in the tissues of castrated pigs surgically versus other evaluated groups of pork could be attributed to chemical composition and maturity of fatty tissues. Quality of fat tends to be lower in entire male pigs than castrates and sows due to a higher proportion of water and a lower proportion of lipid that means a less mature tissue (Wood et al. 2008). According to Grela et al. (2013), fat of surgically castrated males content the lowest of PUFA (pro-oxidant) in comparison with non-castrated pigs, immunocastrated males vaccinated with Improvac® and gilts. Free radicals formation is related to from metabolism of skatole. Such free radicals promote lipid peroxidation, especially of highly unsaturated fatty acids (Bray and Kirkland 1990).

Figure 2: Antioxidant capacity (DPPH % inhibition) in different cuts/muscles of pork



6) back fat, 7) *M. triceps brachchii*, 8) *M. biceps femoris*, 9) *M. semitendinosus*, a–b letters are represented the strong correlation ($P < 0.05$) between evaluated groups of pork

Conclusion

Surgical castration of pigs is traditional method in many countries. Immunocastration is recommended as alternative method due to animal welfare. This study found that the antioxidant capacity in different muscles of pigs is affected positively by surgical method of castration. The topic required more study by using other methods of antioxidant capacity evaluations and correlation with pro-oxidants detection as well as oxidation status of meat.

References

- Bray, T.M., Kirkland, J.B. The metabolic basis of 3-methylindole-induced pneumotoxicity. *Pharmacol. Ther.* 1990, Vol. 46, pp. 105–118.
 Council Directive 2008/120/EC of 18 December 2008 laying down minimum standards for the protection of pigs. *OJ. L.* 47, 5-13.

- Florek, M., Litwińczuk, Z., Skąlecki, P., Kędzierska-Matysek M., Grodzicki, T. Chemical composition and inherent properties of offal from calves maintained under two production systems. *Meat Sci.* 2012, Vol. 90, pp. 402-409.
- Fredriksen, B., Font I Furnols, M., Lundström, K., Migdal, W., Prunier, A., Tuytens, F.A.M., Bonneau, M. Practice on castration of piglets in Europe. *Animal.* 2009, Vol. 3, pp. 1480-1487
- Grela, E.R., Kowalczyk-Vasilev, E., Klebaniuk, R. Performance, pork quality and fatty acid composition of entire males, surgically castrated or immunocastrated males, and female pigs reared under organic system. *Pol J Vet Sci.* 2013, Vol. 16, 107–114.
- Heilerová, L., Bučková, M., Tarapčík, P., Šilhár, S., Labuda, J. Comparison of antioxidative activity data for aqueous extracts of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.), Oregano (*Oreganum vulgare* L.), Thyme (*Thymus vulgaris* L.) and Agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.) obtained by conventional methods and the DNA-based biosensor. *Czech J. Food Sci.* 2013, Vol. 21, pp. 78–84.
- Jung, S., Choe, J.H., Kim, B., Yun, H., Kruk, Z.A., Jo, C. Effect of dietary mixture of gallic acid and linoleic acid on antioxidative potential and quality of breast meat from broilers. *Meat Sci.* 2010, Vol. 86, pp. 520–526.
- Kouba, M., Enser, M., Whittington, F.M., Nute, G.R., Wood, J.D. Effect of a high-linolenic acid diet on lipogenic enzyme activities, fatty acid composition and meat quality in the growing pig. *J. Animal Sci.* 2003, Vol. 81, pp. 1967–1979.
- Pauly, C., Luginbühl, W., Ampuero, S., Bee, G. Expected effects on carcass and pork quality when surgical castration is omitted—Results of a meta-analysis study. *Meat Sci.* 2012, Vol. 92(4), pp. 858–862.
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I., Whittington, F.M. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Sci.* 2008, Vol. 78, pp. 343–358.

Acknowledgement

This project was supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (QJ1510233).

Contact address

Ing. Fouad Ali Abdullah ABDULLAH, Ph.D.
Department of Meat Hygiene and Technology
FVHE, VFU Brno
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic
e-mail: abdullahf@vfu.cz

Senzorické hodnotenie sušeného ovocia

Organoleptic evaluation of dried fruits

Baranová, M., Strapáč, I., Ištoková, A.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Sušenie ako spôsob konzervovania je jeden z ekonomicky najvýhodnejších spôsobov dlhodobého uchovávania ovocia a zeleniny. Sušené ovocie je v poslednom období veľmi vyhľadávané. Sušené produkty môžeme konzumovať priamo alebo ich využívame pri príprave rôznych druhov jedál. Správne sušenie umožňuje uchovať v ovocí príjemnú chuť, vôňu a mnoho ďalších komponentov dôležitých pre zdravú výživu. Práca je zameraná na hodnotenie kvality vybraných druhov ovocia sušeného v domácich podmienkach a sušeného ovocia ponúkaného v obchodných reťazcoch. Cieľom práce bolo senzorické hodnotenie vône, farby, chuti, konzistencie a celkového vzhľadu sušeného ovocia a jeho schopnosť rehydratácie. Výsledky senzorického hodnotenia vône, farby, chuti, konzistencie a celkového vzhľadu jablák a hrušiek sušených v domácich podmienkach ako aj sušených sliviek, marhúl a hrozienok, zakúpených v obchodnom reťazci Lidl poukázali na dobrú kvalitu všetkých hodnotených druhov sušeného ovocia.

Abstract

Drying as a method of food preservation is one of the most economically advantageous methods for long-term storage of fruits and vegetables. Dried fruits became more popular through last years. Dried fruits are consumed directly or are used as a component of consumed meals. The right process of drying keeps pleasant flavour, aroma and composition of dried products. The work evaluates organoleptic quality of some home-made dried fruits and commercial dried fruits. The aim of this work was to evaluate aroma, color, taste, consistency and appearance of dried fruits and their ability to rehydrate. The results of organoleptic evaluation and rehydratation showed the good quality of home-made dried apples and pears as well as commercial dried plums, apricots and raisins from Lidl.

Kľúčové slová: *lyofilizácia, senzorické hodnotenie, sušené ovocie, sušená zelenina, sušičky, technológia sušenia*

Úvod

Rýchlo sa kaziace ovocie a zeleninu je možné udržiavať čerstvé v požívateľnom stave len počas krátkej doby. Jedným z najstarších spôsobov konzervovania je sušenie, jednoduchý a lacný spôsob ochrany ovocia a zeleniny pred kazením (Samwald 2009, Keresteš a kol. 2011, Baranová 2011). Sušené ovocie sa v posledných rokoch znova stalo veľmi vyhľadávané. Je obľúbenou pochutinou, maškrtou, ktorá svojou energetickou hodnotou nahrádza cukrárenské, či pekárenské výrobky (Ištoková 2018). Konzervovanie sušením patrí medzi anabiotické konzervovanie postupným vysušením prostredia (osmoanabióza). Medzi základné účinky tohto spôsobu konzervovania patrí odstraňovanie voľnej vody z potraviny a zvyšovanie osmotického tlaku v kvapalnom podiele potraviny tak, aby ju zníženie aktivity vody v produkte urobilo stabilnou z hľadiska pôsobenia mikroorganizmov (Labuza et al. 2007, Campbell–Platt 2009,

Baranová 2012). Pri vlastnom sušení nedochádza k inaktivácii enzýmov ani mikroorganizmov (Drdák a kol. 1996).

Z druhov ovocia, ktoré je možno pestovať na Slovensku sa najviac sušia jablká, hrušky, slivky, marhule, čerešne a rôzne druhy drobného bobuľovitého ovocia. Na našom trhu sú však dostupné aj sušené banány, kiwi a aj iné druhy exotického ovocia (Ištoková 2018).

Správne sušenie umožňuje uchovať v ovocí príjemnú chuť, vôňu a mnoho ďalších komponentov dôležitých pre zdravú výživu (Samwald 2009). Výber najvhodnejšej metódy sušenia ovplyvňuje množstvo a druh materiálu, priestorové možnosti a dostupný zdroj tepla. Pri sušení nesmie dôjsť k nevratnej dehydrogenácii koloidov (Zou et al. 2013, Khawas et al. 2016). V praxi sú však určité nevratné zmeny nevyhnutné, ak má byť produkt úspešne skladovaný (teoreticky by vlhkosť u sušenej zeleniny nemala klesnúť pod 12 %) (Baranová 2012, Jevinová a kol. 2013).

Cieľom práce bolo zhodnotiť senzorickú kvalitu sušených ovocných produktov vlastnej výroby a sušených ovocných produktov zakúpených v obchodných reťazcoch a stanoviť schopnosť rehydratácie sušeného ovocia

Materiál a metodika

Ako materiál v tejto práci sme použili sušené ovocie vyrobené sušením v domácich podmienkach (jablká a hrušky cca 0,5 kg) a zakúpené v obchodnom reťazci Lidl (sušené slivky, sušené marhule a sušené hrozienka - 1 balenie z každého druhu). Zakúpené druhy sušeného ovocia v čase vykonávania laboratórnych skúšok spĺňali požiadavku minimálnej trvanlivosti.

Výroba sušeného ovocia v domácich podmienkach

Na výrobu sušených jablák sme použili jablká z odrody Jonathan strednej veľkosti a guľatého tvaru. Použili sme plody v konzumnej zrelosti bez mechanického poškodenia. Pred sušením sme jablká umyli, odstránili jadrovníky, šupku a jablká nakrájali na tenké plátky. Plátky sme sušili 6 hodín v elektrickej, viacstupňovej sušičke potravín FD 1250 od výrobcu Alaska.

Pri výrobe sušených hrušiek sme použili odrodu Konferencia, plody boli fľaškovitého tvaru s roztrúsenou hrdzavosťou na povrchu šupky. Hrušky sme pred sušením umyli, zbavili šupky, jadrovníka a nakrájali na tenké plátky. Plátky sme sušili 20 hodín v elektrickej, viacstupňovej sušičke potravín FD 1250 od výrobcu Alaska.

Vysušené jablká a hrušky sme pred senzorickým hodnotením a rehydratáciou skladovali cca dva mesiace v plátenných vreckách pri teplote cca 18 °C.

Senzorické hodnotenie sušeného ovocia

Pre hodnotené druhy sušeného ovocia sme vypracovali deskriptory jednotlivých senzorických znakov. Senzorické hodnotenie bolo vykonané 6 neškolenými študentmi odboru Bezpečnosť krmív a potravín UVLF v Košiciach. Úlohou hodnotiteľov bolo klasifikovať vôňu, farbu, chuť, konzistenciu a celkový vzhľad sušeného ovocia na základe nami stanovenej 5 bodovej stupnice.

Jednotlivé druhy sušeného ovocia v počte troch až piatich kusov sme hodnotiteľom predkladali na bielych tanieroch.

Rehydratácia sušeného ovocia

Podstatou rehydratácie je opätovné absorbovanie vody do sušených rastlinných tkanív. Jednotlivé druhy sušeného ovocia sme navázili s presnosťou na dve desatinné miesta, vložili do kadičky, zaliali 200 ml destilovanej vody a nechali 4 hodiny rehydratovať. Po štyroch hodinách rehydratácie sme zistili množstvo prijatej vody ovocím, vypočítali sme zvýšenie hmotnosti ovocia a podiel sušeného ovocia v rehydratovanom ovocí.

Výsledky a diskusia

Výsledky senzorického hodnotenia vône, farby, chuti, konzistencie a celkového vzhľadu vybraných druhov sušeného ovocia sú uvedené v tabuľke 1.

Tabuľka 1: Priemerný počet bodov senzorického hodnotenia (vône, farby, chuti, konzistencie a celkového vzhľadu) vybraných druhov sušeného ovocia

sušené ovocie	priemerné počet bodov				
	vôňa	farba	chuť	konzistencia	celkový vzhľad
sušené jablká	3,80	4,60	3,40	3,60	4,00
sušené hrušky	3,60	4,00	3,50	2,83	3,16
sušené slivky	3,16	4,00	3,00	3,83	2,66
sušené marhule	3,83	5,00	3,83	4,00	3,83
sušené hrozienka	3,33	3,00	3,83	4,00	2,66

Zdroj: vlastná tabuľka

Pri hodnotení sušených jablák domácej výroby hodnotitelia posudzovali ich celkový vzhľad ako dobrý až vynikajúci. Sušené jablká domácej výroby tak získali najvyšší priemerný počet bodov (4,00) zo všetkých hodnotených druhov sušeného ovocia a ich celkový vzhľad bol hodnotený ako veľmi dobrý.

Vôňa (3,80) a konzistencia (3,60) sušených jablák bola hodnotená ako dobrá až veľmi dobrá. Chuť bola ohodnotená ako uspokojivá až dobrá (3,40). Najvyšší priemerný počet bodov zo senzorických charakteristík sušených jablák získala farba (4,60). Bola hodnotená ako veľmi dobrá až vynikajúca.

Rovnako ako sušené jablká domácej výroby, sušené hrušky domácej výroby získali najlepšie hodnotenie (veľmi dobré) za farbu (4,00). Vôňa (3,60) a chuť (3,50) boli ohodnotené ako dobré až veľmi dobré. Konzistencia sušených hrušiek domácej výroby však bola ohodnotená len ako neuspokojivá až uspokojivá (2,83). Pri hodnotení celkového vzhľadu sušené hrušky domácej výroby boli posúdené ako dobré až veľmi dobré (3,16).

Aj keď vôňa (3,16), farba (4,00), chuť (3,00) a konzistencia (3,83) sušených sliviek boli priemerným počtom bodov posúdené ako dobré až veľmi dobré, ich celkový vzhľad bol len uspokojivý až dobrý (2,66). Najvyšší priemerný počet bodov sušené slivky získali za farbu, ktorá bola jednotlivými hodnotiteľmi posúdená ako veľmi dobrá až vynikajúca.

Farba sušených marhúl bola posúdená ako vynikajúca všetkými hodnotiteľmi (5,00). Konzistencia sušených marhúl (4,00) bola veľmi dobrá. Vôňa, chuť a celkový vzhľad sušených marhúl boli ohodnotené ako dobré až veľmi dobré s rovnakým počtom bodov (3,83).

Veľmi dobre bola hodnotená aj konzistencia sušených hrozienok (4,00). S priemerným počtom bodov za farbu (3,00), vôňu (3,33) a chuť (3,83) boli tieto znaky sušených hrozienok posúdené ako dobré až veľmi dobré. Celkový vzhľad sušených hrozienok (2,66) bol hodnotený len ako uspokojivý až dobrý.

Kvalitné sušené ovocie má byť výrobok bez prídavku cukru alebo náhradného sladidla, nesmie obsahovať škodcov v žiadnom vývojovom štádiu a rezíduá cudzorodých látok ohrozujúcich zdravie konzumentov. Priemyselne vyrobené sušené ovocie však môže mať aj svoje negatíva. Môže nás zasobiť aj cukrami, mykotoxínmi a pesticídmi (Iamanaka et al. 2005, <https://www.dtest.cz/clanek-4752/test-susenych-fiku-a-datli-2015>). Doma sušené ovocie neobsahuje pridaný cukor, náhradné sladidlá ani konzervačné látky.

Výsledky rehydratácie, zvýšenie hmotnosti sušeného ovocia po rehydratácii a podiel sušeného ovocia v rehydratovanom ovocí sú uvedené v tabuľke 2.

Výsledky po štyroch hodinách rehydratácie ukázali, že najlepšiu schopnosť absorbovať vodu mali sušené jablká a sušené hrušky domácej výroby. Sušené jablká domácej výroby množstvom prijatej vody zvýšili svoju hmotnosť viac ako štyrikrát a sušené hrušky domácej výroby viac ako trikrát. Sušené slivky, marhule a hrozienka absorbovali oveľa menej vody a navýšili svoju hmotnosť len 1,34 až 1,56 krát.

Tabuľka 2: Rehydratácia sušeného ovocia, zvýšenie hmotnosti sušeného ovocia po rehydratácii v g a podiel sušeného ovocia v rehydratovanom ovocí percentách

sušené ovocie	hmotnosť pred rehydratáciou v g	hmotnosť po rehydratácii v g	podiel sušeného ovocia v rehydratovanom ovocí v %
sušené jablká	15,30	64,61	23,68
sušené hrušky	15,70	58,17	26,98
sušené slivky	55,37	74,16	74,66
sušené marhule	54,59	85,26	64,02
sušené hrozienka	55,15	77,17	71,46

Zdroj: vlastná tabuľka

Najvyšší podiel sušeného ovocia po rehydratácii bol stanovený v sušených slivkách (74,66 %). Podiel sušeného ovocia po rehydratácii sušených jablka a hrušiek, keďže sa jednalo o vlastné domáce sušenie, by v prípade uvádzania do obehu nesplnil požiadavku Vyhlášky MPA RV SR č. 132/2014 o spracovanom ovocí a zelenine, jedlých hubách, olejninách, suchých škrupinových plodoch, zemiakoch a výrobkoch z nich. Podiel sušiny v rehydratovanom ovocí musí byť podľa vyhlášky najmenej 63 % hmotnosti. Údaje o rehydratácii neboli uvedené na obale hodnoteného sušeného ovocia. Množstvo absorbovanej vody malo vplyv na senzorickú kvalitu rehydratovaného ovocia, najmä na jeho konzistenciu. Rehydratované jablká a hrušky mali veľmi mäkkú, vodnatú konzistenciu.

Rehydratácia je dôležitý parameter kvality sušeného ovocia a zeleniny. Pri správne prevedenom procese dehydratácie sa zachová štruktúra materiálu a sušený produkt môže znova absorbovať vodu, kým sa neobnovia jeho originálne vlastnosti (Marques et al. 2009). V skutočnosti je rehydratačná kapacita jedným z najdiskutovanejších kvalitatívnych atribútov sušeného ovocia a zeleniny. Vplyv sušenia horúcim vzduchom, sušenia vo vákuu a lyofilizácie na rehydratačnú kapacitu skúmali viacerí autori. Ich štúdie preukázali, že inovatívne sušiacie techniky zlepšujú fyzikálne vlastnosti (štruktúru, mikroštruktúru, pórovitosť) a rehydratačnú kapacitu sušeného ovocia a zeleniny (Zou et al. 2013, Zielinská and Markowski 2016, Khawas et al. 2016).

Záver

Výsledky senzorickeho hodnotenia vône, farby, chuti, konzistencie a celkového vzhľadu jabĺk a hrušiek sušených v domácich podmienkach ako aj sušených sliviek, marhúľ a hrozienok, zakúpených v obchodnom reťazci Lidl poukázali na dobrú kvalitu hodnotených druhov sušeného ovocia. Celkový vzhľad sušených jabĺk domácej výroby získal najvyššie bodové ohodnotenie. Zo sušeného ovocia, ktoré bolo zakúpené v obchodnom reťazci Lidl, boli ako najlepšie hodnotené sušené marhule. Rehydratované sušené slivky, marhule a hrozienka splnili požiadavku týkajúcu sa podielu sušiny v rehydratovanom ovocí (Vyhláška MPA RV č. 132/2014). Sušené ovocie a rehydratované ovocie má široké použitie. Aj keď je dnes na trhu aj počas zimného obdobia široký výber čerstvého ovocia, sušené ovocie nám veľmi príjemne a hodnotne spestruje náš jedálny lístok.

Použitá literatúra u autora.

Kontaktná adresa

doc. RNDr. Mária Baranová, PhD.

UVLF Košice

Ústav hygieny a technológie mlieka

Komenského 73, 041 81 Košice

e-mail: maria.baranova@uvlf.sk

Kvalitatívne hodnotenie malinových a jahodových sirupov

Qualitative evaluation of raspberry and strawberry syrups

Baranová, M., Strapáč, I., Sabolová, M.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Cieľom práce bolo hodnotenie senzorickej kvality a stanovenie fyzikálnych vlastností vybraných trhových druhov malinových a jahodových sirupov ako aj domáceho malinového a jahodového sirupu, ktoré boli vyrobené podľa tradičných receptúr v domácich podmienkach. Senzorická kvalita ovocných sirupov sa stanovila posúdením vzhľadu, farby, konzistencie, chuti a vône na základe vypracovaných deskriptorov. Výsledky senzorickeho hodnotenia poukázali na značné rozdiely v senzorickej kvalite ovocných sirupov najmä v súvislosti s obsahom ovocnej zložky. Najlepšie výsledky pri senzorickej hodnote ovocných sirupov dosiahli domáce ovocné sirupy, ktoré na rozdiel od zakúpených trhových druhov sirupov, boli vyrobené len z ovocnej šťavy, cukru a neobsahovali žiadne prídavné látky okrem kyseliny citrónovej. Výsledky fyzikálneho hodnotenia sirupov (refraktometrická sušina, kyselina citrónová, pH) potvrdili senzorickej kvalite najmä domácich sirupov a sirupov s vyššou koncentráciou príslušnej ovocnej šťavy.

Kľúčové slová: džús, limonáda, nealkoholický ovocný nápoj, nektár, ovocný koncentrát, ovocná šťava, senzorickej hodnotenie, sirup

Abstract

The aim of the work was to assess the sensory quality and determination of physical properties of selected market types of raspberry and strawberry syrups and raspberry and strawberry syrup, which were made according to traditional recipes in domestic conditions. The sensory quality of fruit syrups was determined by assessing the appearance, color, consistency, taste and flavour based on the developed descriptors. The results of the sensory evaluation revealed significant differences in the sensory quality of fruit syrups, especially in relation to the fruit component content. The best results in sensory evaluation of fruit syrups have been achieved in home-made fruit syrups, which were made only from fruit juice, sugar and contain no additives other than citric acid. The results of the physical evaluation of syrups (refractometric dry matter, citric acid, pH) confirmed the sensory quality of home-made syrups and syrups with a higher concentration of fruit juice.

Úvod

Ovocné sirupy sú presladené koncentrované ovocné šťavy, ktoré sa pred konzumáciou riedia vodou. Na výrobu sa používajú mäkké, šťavnaté, chuťovo výrazné druhy ovocia napr. maliny, jahody, ríbezle a pod. (Lokoč a kol. 2011).

Sirup patrí do kategórie nápojových koncentrátov. Hlavným znakom sirupov je, že obsahujú viac ako 50 percent prírodných sladidiel, ktoré sa pridávajú nielen z chuťových, ale aj zo stabilizačných dôvodov. V prípade ovocných sirupov, ktoré sú zákazníkom k dispozícii na našom trhu, sa ako sladidlo používa cukor (sacharóza) alebo glukóza – fruktózový sirup (Jak chutná sirup 2015).

Obsah a druh ovocia v ovocnom sirupe je hlavným ukazovateľom jeho kvality. V zmesných sirupoch môžu jahody tvoriť len zlomok celkového obsahu ovocia. Zvyšok tvoria najčastejšie jablká, jarabina a baza čierna. Pri dostatočnom obsahu cukru nie je potrebné do sirupov pridávať žiadne konzervačné látky. Za kvalitnejší sa považuje sirup s vyšším obsahom cukru. Je sladší, hustejší, a vyrobí sa z neho väčšie množstvo nápoja (Kmecová 2015). V minulosti bolo v surovej ovocnej šťave rozpustené toľko cukru, aby hotový výrobok bol konzervovaný sušinou. Normou bola stanovená dávka cukru na 100 kg výrobku (Dobiáš 2004). V súčasnosti sa mnohé sirupy vyrábajú len na základe aromatických a zákalových báz a neobsahujú ovocnú šťavu (Horčín 2004, Špačková 2015, Večerková 2018, Sabolová 2018).

Cieľom práce bolo hodnotenie senzorickej kvality a stanovenie fyzikálnych vlastností vybraných trhových druhov malinových a jahodových sirupov ako aj domáceho malinového a jahodového sirupu, ktoré boli vyrobené podľa tradičných receptúr v domácich podmienkach.

Materiál a metodika

Trhové druhy malinových a jahodových sirupov boli zakúpené v obchodných sieťach na Slovenku (Zlatá Studňa sirup s príchutou malina, CBA sirup s príchutou malina, Limofit sirup s príchutou malina, Zlatá Studňa sirup s príchutou lesná jahoda, YO ovocný sirup z jahody).

Domáci malinový a domáce jahodové sirupy boli vyrobené z čerstvého ovocia v domácich podmienkach podľa tradičných receptúr.

Výroba domácich ovocných sirupov

Na výrobu domáceho jahodového sirupu sme použili 2 kg domácich jahôd (plody Jahody obyčajnej (*Fragaria vescea*)), 2 l prevarenej a vychladenej vody, 75 g kyseliny citrónovej a 2 kg kryštálového cukru. Očistené jahody sme nechali namáčať 24 hodín na teplotu 90°C počas 5 minút. Hotový sirup sme ihneď naliali do sklenených vysterilizovaných fliaš, uzavreli a nechali pozvoľna vychladnúť.

Na výrobu malinového sirupu sme použili plody Maliny obyčajnej (*Rubus idaeus*) cca 3 kg. Vytriedené a očistené maliny sme natlačili do 5 l sklenenej fľaše so širokým hrdlom do výšky cca 10 cm od vrchu a fľašu sme prekryli gázou. Fľašu s malinami sme nechali 10 dní na slnku kysnúť. Po uplynutí tejto doby, sme malinovú šťavu bez mechanického pretláčania precedili cez gázu. K získanej malinovej šťave sme pridali cukor v množstve 800 g na liter získanej šťavy a zmes sme priviedli do varu. Počas cca 10 minút varenia sme zbierali penu. Hotový horúci sirup sme naplnili do vysterilizovaných sklenených fliaš, uzavreli a nechali pozvoľna vychladnúť.

Senzorické hodnotenie ovocných sirupov

Senzorické hodnotenie ovocných sirupov pozostávalo z hodnotenia vzhľadu a farby, konzistencie, chute a vône a celkového hodnotenia sirupov na základe vypracovaných deskriptorov pre malinové a jahodové sirupy. Úlohou hodnotiteľov pri senzorickej hodnote bolo kvantifikovať vzhľad a farbu, konzistenciu, chuť a vôňu a celkové hodnotenie 7 – bodovou stupnicou. Odmerané množstvo 20 ml ovocných sirupov sme hodnotiteľom predkladali v sklenených pohárikoch ako vzorka č. 1, 2 atď. podľa počtu druhov daného sirupu. Senzorické hodnotenie bolo vykonané školenými 6 študentmi odboru Trh a kvalita potravín UVLF v Košiciach.

Stanovenie fyzikálnych vlastností ovocných sirupov

Na meranie refraktometrickej sušiny (obsahu cukru) ovocných sirupov v °Brix bol použitý hranolový refraktometer ABBE. Koncentrácia kyseliny citrónovej bola stanovená potenciometricky (Goliáš, Němcová 2009). Na meranie pH sme použili pH meter inoLab pH 7110. Farba ovocných sirupov bola stanovená Chroma metrom CR-410. Každá vzorka bola meraná šesť krát. Výsledky boli spracované v programe Color Data Software CM-S100w SpectraMagic™ NX (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan, 2014).

Výsledky a diskusia

Priemerné počty bodov jednotlivých sledovaných znakov a celkové hodnotenie senzorickej kvality ovocných sirupov uvádzame v tabuľkách 1 a 2.

Tabuľka 1: Priemerný počet bodov jednotlivých sledovaných znakov a celkového hodnotenia senzorickej kvality malinových sirupov

názov výrobku	priemerný počet bodov			celkové hodnotenie senzorickej kvality
	vzhľad a farba	konzistencia	chuť a vôňa	
domáci malinový sirup	7,00	6,83	6,66	6,83
Zlatá studňa s príchutťou malina	6,00	6,33	6,00	5,83
CBA s príchutťou malina	4,66	4,50	3,83	4,50
Limofit s príchutťou malina	4,83	4,00	3,16	3,83

Zdroj: Vlastná tabuľka

Domáci malinový sirup dosiahol najvyšší priemerný počet bodov v hodnotení vzhľadu a farby (7,00). Vzhľad a farbu sirupu sme vyhodnotili ako vynikajúcu. Sirup neobsahoval pridané farbivá, ktoré by zvýraznili jeho charakteristickú malinovočervenú farbu. Veľmi dobrý vzhľad a farbu (6,00), dosiahol sirup Zlatá studňa s príchutťou malina, ktorý obsahoval rastlinný farbiaci koncentrát z čiernej mrkvy pre zvýraznenie červenej farby typickej pre malinový sirup. Vzhľad a farba sirupu CBA s príchutťou malina (4,66) a sirupu Limofit s príchutťou malina boli uspokojivé až dobré. Sirupy vo svojom zložení obsahovali syntetické červené farbivo azorubín, ktorý môže mať nepriaznivé účinky na činnosť a pozornosť detí.

Konzistencia domáceho malinového sirupu (6,83) a sirupu Zlatá studňa s príchutťou malina (6,33) bola na základe priemerného počtu bodov vyhodnotená ako veľmi dobrá až vynikajúca. Sirup CBA s príchutťou malina mal konzistenciu uspokojivú až dobrú (4,50). Uspokojivú konzistenciu s priemerným počtom bodov (4,00) mal sirup Limofit s príchutťou malina.

Najvyšší priemerný počet bodov v hodnotení chuti a vône získal domáci malinový sirup (6,66). Chuť a vôňa sirupu bola veľmi dobrá až vynikajúca, charakteristická po čerstvých malinách. Sirup Zlatá studňa s príchutťou malina mal veľmi dobrú chuť a vôňu (6,00). Obsahoval však náhradné sladidlo sacharín a malinovú arómu. Chuť a vôňa sirupov CBA s príchutťou malina (3,83) a Limofit s príchutťou malina (3,16) boli neuspokojivé až uspokojivé. Sirupy obsahovali vo svojom zložení umelé sladidlá cyklamát sodný a sacharín sodný.

Celková senzoričká kvalita domáceho malinového sirupu, na základe senzoričkého hodnotenia vzhľadu a farby, konzistencie, chuti a vône, bola posúdená ako neuspokojivá až vynikajúca. Celková senzoričká kvalita domáceho malinového sirupu bola veľmi dobrá až vynikajúca (6,83). Najnižší priemerný počet bodov za celkové hodnotenie senzoričkej kvality získal sirup Limofit s príchuťou malina (3,83). Sirup Zlatá studňa s príchuťou malina (5,83) mal celkovú senzoričnú kvalitu dobrú až veľmi dobrú. Celková senzoričká kvalita sirupu CBA s príchuťou malina bola uspokojivá až dobrá (4,50).

Večerková (2018) uvádza výsledky testov 12 malinových sirupov zakúpených v obchodných sieťach, internetových a farmárskych obchodoch. Senzoričné hodnotenie malinových sirupov bolo zamerané na hodnotenie vône, chuti, farby a podielu ovocnej zložky v sirupe. Najväčší rozdiel bol v obsahu malinovej šťavy. Malinové sirupy neobsahovali syntetické farbivá, ale obsahovali prírodné koncentráty a extrakty z čiernej mrkvy, červenej repy alebo z granátového jablka. Výsledky testu malinových sirupov poukázali na rôznorodosť ovocných sirupov na trhu. V teste boli hodnotené sirupy s obsahom malinovej šťavy a výrobky bez obsahu ovocnej šťavy. Sirupom bez obsahu ovocnej zložky dodáva chuť malinová aróma.

Podľa dTestu, ktorý v roku 2015 uskutočnil testovanie malinových sirupov môžeme vedľa ovocných sirupov v obchode nájsť aj produkty, ktoré sa len tvária ako ovocné sirupy, ale podľa legislatívy nimi nie sú. Výrobcovia ich pomenovávajú ako napr. „Malina s príchuťou“ alebo „Malinová chuť“. Nepatria medzi sirupy, z dôvodu obsahu nenutričných sladidiel (najčastejšie sacharín a aspartam) alebo nedostatočného množstva prírodných sladidiel. Vo svojom zložení majú tieto „sirupy“ na prvom mieste pitnú vodu. Konzistencia sirupov s príchuťou (napr. malinová) je v porovnaní so sirupmi, ktoré obsahujú ovocnú šťavu, riedka. Sirupy s príchuťou neobsahujú ovocný podiel, ale takmer vždy obsahujú chemické konzervanty. V ovocných sirupoch je cukor prirodzeným konzervantom. Aby mal konzervačný účinok, jeho množstvo vo výrobkoch by malo byť vyššie ako 60 %.

Tabuľka 2: Priemerný počet bodov jednotlivých sledovaných znakov a celkového hodnotenia senzoričkej kvality jahodových sirupov

názov výrobku	priemerný počet bodov			celkové hodnotenie senzoričkej kvality
	vzhľad a farba	konzistencia	chuť a vôňa	
domáci jahodový sirup 1	7,00	6,83	7,00	7,00
domáci jahodový sirup 2	6,83	7,00	6,33	6,66
Zlatá studňa s príchuťou lesná jahoda	6,66	5,66	5,50	5,83
YO ovocný sirup z jahody	1,00	6,00	4,66	1,66

Zdroj: Vlastná tabuľka

Priemerný počet bodov za vzhľad a farbu hodnotených jahodových sirupov (1,00 – 7,00) poukázal na veľké rozdiely v ich senzoričkej kvalite. Domáce jahodové sirupy 1 a 2 neobsahovali žiadne prírodné ani syntetické farbivá. Mali veľmi dobrý až vynikajúci vzhľad a farbu charakteristickú pre jahodovú šťavu. Veľmi dobrý až vynikajúci vzhľad a farbu (6,66) dosiahol sirup Zlatá studňa s príchuťou lesná jahoda, ktorý však obsahoval rastlinný farbivaci koncentrát z čiernej mrkvy. Vzhľad a farba sirupu YO ovocný sirup z jahody, boli hodnotené ako neprijateľné (1,00). Sirup

obsahoval okrem jahodovej šťavy aj šťavu z čiernej ríbezle, arónie a čiernej bazy, ktoré zvýraznili tmavé sfarbenie sirupu, netypické pre jahodový sirup.

Domáci jahodový sirup 2 v hodnotení konzistencie získal najvyšší priemerný počet bodov (7,00). Konzistencia domáceho jahodového sirupu 1 (6,83) a YO ovocného sirupu z jahody (6,00) bola veľmi dobrá až vynikajúca. Dobrú až veľmi dobrú (5,66) konzistenciu mal sirup Zlatá studňa s príchutou lesná jahoda.

Domáci jahodový sirup 1 mal vynikajúcu chuť a vôňu (7,00) charakteristickú po čerstvých jahodách. Veľmi dobrú až vynikajúcu chuť a vôňu dosiahol aj domáci jahodový sirup 2 (6,33). Chuť a vôňu sirupu Zlatá studňa s príchutou lesná jahoda bola dobrá až veľmi dobrá (5,50). Sirup obsahoval umelé sladidlo sacharín. Najnižší priemerný počet bodov v hodnotení chuti a vône získal sirup YO ovocný sirup z jahody (4,66). Chuť a vôňa sirupu bola uspokojivá až dobrá. YO ovocný sirup z jahody obsahoval ovocnú šťavu z koncentráту jahody v množstve 10 % hmot., neobsahoval náhradné sladidlá.

Na základe senzorickeho hodnotenia vzhľadu a farby, konzistencie, chuti a vône, celková senzorickej kvalita jahodových sirupov bola posúdená ako neprijateľná až vynikajúca. Najnižší priemerný počet bodov za celkové hodnotenie senzorickej kvality získal sirup YO ovocný sirup z jahody (1,66). Celková senzorickej kvalita domácich jahodových sirupov bola veľmi dobrá až vynikajúca (6,66 – 7,00). Sirup Zlatá studňa s príchutou lesná jahoda (5,83) mal celkovú senzorickej kvalitu dobrú až veľmi dobrú.

TestDNES v roku 2015 uskutočnil test 12 jahodových sirupov, dostupných v obchodných sieťach v Českej republike. Sirupy označené ako jahodové, s obrázkom veľkých jahôd na obaloch sirupov, podľa testu obsahovali minimálne množstvo jahôd. Špačková (2015) odporúča spotrebiteľom sledovať zloženie ovocných sirupov. Z 12 hodnotených jahodových sirupov iba jeden obsahoval 30 % koncentrovanej jahodovej šťavy. Sirupy obsahovali farbivá vyrobené z prírodných surovín.

Nami hodnotené jahodové sirupy mali rozdielne zloženie, čo sa preukázalo aj pri senzorickej hodnotení vône, chuti a konzistencie. Domáce jahodové sirupy boli vyrobené z domácich jahôd a neobsahovali žiadne prírodné ani syntetické farbivá či konzervačné látky. Použitý cukor bol prirodzeným konzervantom.

Výsledky fyzikálneho hodnotenia ovocných sirupov (refraktometrická sušina, kyselina citrónová, pH) sú uvedené v tabuľkách 3 a 4.

Tabuľka 3: Výsledky fyzikálneho hodnotenia malinových sirupov (refraktometrická sušina, kyselina citrónová, pH)

názov výrobku	refraktometrická sušina (°Brix)	kys. citrónová (%)	pH
domáci malinový sirup	55,90	1,47	2,73
Zlatá studňa sirup s príchutou malina	45,10	1,61	2,39
CBA sirup s príchutou malina	nestanovené	1,12	2,54
Limofit sirup s príchutou malina	nestanovené	1,09	2,54

Zdroj: Vlastná tabuľka

Najvyššia refraktometrická sušina bola nameraná v domácom malinovom sirupe (55,90 °Brix). Sirup Zlatá studňa s príchutou malina (45,10 °Brix) mal nameranú nižšiu refraktometrickú sušinu ako domáci malinový sirup. Sirupy s príchutou malina značky

CBA a Limofit z dôvodu obsahu nenutričných sladidiel nemali stanovenú refraktometrickú sušinu.

Koncentrácia kyseliny citrónovej bola najvyššia v sirupe Zlatá studňa s príchutou malina (1,61 %), sirup mal zároveň aj najnižšiu nameranú hodnotu pH (2,39). Domáci malinový sirup mal najvyššiu nameranú hodnotu pH (2,73) a koncentrácia kyseliny citrónovej (1,47 %) bola nižšia ako v sirupe Zlatá studňa s príchutou malina. Najnižšia koncentrácia kyseliny citrónovej bola v sirupe Limofit s príchutou malina (1,09 %), o niečo vyššiu koncentráciu mal sirup CBA s príchutou malina (1,12 %). Sirupy s malinovou príchutou značky CBA a Limofit mali rovnakú hodnotu pH (2,54).

Tabuľka 4: Výsledky fyzikálneho hodnotenia jahodových sirupov (refraktometrická sušina, kyselina citrónová, pH)

názov výrobku	refraktometrická sušina (°Brix)	kys. citrónová (%)	pH
domáci jahodový sirup 1	55,50	1,40	2,39
domáci jahodový sirup 2	48,10	1,26	2,97
Zlatá studňa sirup s príchutou lesná jahoda	45,00	1,68	2,41
YO ovocný sirup z jahody	61,10	1,71	2,45

Zdroj: Vlastná tabuľka

YO ovocný sirup z jahody mal nameranú najvyššiu refraktometrickú sušinu (61,10 °Brix). Domáci jahodový sirup 1 (55,50 °Brix), domáci jahodový sirup 2 (48,10 °Brix) a sirup Zlatá studňa s príchutou lesná jahoda (45,00 °Brix) mali nameranú nižšiu refraktometrickú sušinu.

Najnižšiu koncentráciu kyseliny citrónovej (1,26 %) a najvyššiu hodnotu pH (2,97) mal domáci jahodový sirup 2. Najvyššiu koncentráciu kyseliny citrónovej (1,71 %) mal YO ovocný sirup z jahody. Najnižšiu hodnotu pH (2,39) mal domáci jahodový sirup 1.

Priemerné hodnoty kolorimetrických parametrov L* a* b* ovocných sirupov namerané Chroma metrom CR-410 sú uvedené v tabuľkách 5 a 6.

Tabuľka 5: Priemerné hodnoty kolorimetrických parametrov L* a* b* malinových sirupov

názov výrobku	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)
domáci malinový sirup	14,06 ± 0,14	8,70 ± 0,14	-0,36 ± 0,02
Zlatá studňa sirup s príchutou malina	16,65 ± 0,01	27,52 ± 0,04	3,31 ± 0,01
CBA sirup s príchutou malina	29,14 ± 0,02	52,88 ± 0,05	23,18 ± 0,04
Limofit sirup s príchutou malina	29,15 ± 0,06	53,37 ± 0,17	23,63 ± 0,13

Zdroj: Vlastná tabuľka

Najtmavší jas L*(14,06 ± 0,14) bol nameraný Chromametrom v domácom malinovom sirupe. Kolorimetrickým meraním farby sa potvrdili a zvýraznili rozdiely vo farbe jednotlivých sirupov deklarované senzoričným hodnotením. Sirup Zlatá studňa s príchutou lesná jahoda L* (20,49 ± 0,09) mal najsvetlejší jas. Sirup mal vo svojom zložení rastlinný farbivý koncentrát z čiernej mrkvy.

Tabuľka 6: Priemerné hodnoty kolorimetrických parametrov L* a* b* jahodových sirupov

názov výrobku	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)
domáci jahodový sirup 1	18,41 ± 0,03	30,32 ± 0,14	7,21 ± 0,04
domáci jahodový sirup 2	18,67 ± 0,02	28,55 ± 0,03	6,66 ± 0,02
Zlatá studňa sirup s príchuťou lesná jahoda	20,49 ± 0,09	38,42 ± 0,45	10,26 ± 0,18
YO ovocný sirup z jahody	13,73 ± 0,02	6,06 ± 0,05	-0,99 ± 0,02

Zdroj: Vlastná tabuľka

Tmavší jas mal domáci jahodový sirup 1 L* (18,41 ± 0,03) a domáci jahodový sirup 2 L* (18,67 ± 0,02). Sirupy neobsahovali prírodné ani syntetické farbivá, ktoré by zvýraznili ich červenú farbu, charakteristickú pre jahodovú šťavu. Najtmavší jas bol nameraný v YO ovocnom sirupe z jahody L* (13,73 ± 0,02). Sirup neobsahoval farbivá, ale ovocnú šťavu z koncentrátu.

Záver

Ovocný sirup patrí do kategórie nápojových koncentrátov. Hlavným ukazovateľom kvality ovocných sirupov je obsah ovocnej zložky. Čím je vyšší obsah ovocnej šťavy, tým má sirup lepšiu chuť, farbu, vôňu a lepšiu celkovú senzorickejšiu kvalitu. Pri dostatočnom obsahu cukru nie je potrebné pridávať do ovocných sirupov žiadne konzervačné látky.

Domáce ovocné sirupy (malinový, jahodový), v porovnaní s priemyselne vyrobenými ovocnými sirupmi, dosiahli za celkovú senzorickejšiu kvalitu najlepšie bodové hodnotenie. Na ich výrobu bola použitá šťava z čerstvého ovocia, cukor a kyselina citrónová.

Priemyselne vyrobené ovocné sirupy obsahovali ovocnú zložku z koncentrátu alebo len ovocnú príchuť, nenutričné sladidlá a konzervačné látky čo sa prejavilo znížením celkovej senzorickej kvality.

Výsledky fyzikálneho hodnotenia sirupov (refraktometrická sušina, kyselina citrónová, pH, farba) potvrdili veľmi dobrú senzorickejšiu kvalitu najmä domácich sirupov a sirupov s vyššou koncentráciou príslušnej ovocnej šťavy.

Použitá literatúra u autora.

Kontaktná adresa

doc. RNDr. Mária Baranová, PhD.

UVLF Košice, Ústav hygieny a technológie mlieka

Komenského 73, 041 81 Košice

e-mail: maria.baranova@uvlf.sk

Dynamika obsahu mastných kyselin v mléce v průběhu skladování *Dynamics of fatty acid content in milk during storing*

Bartáková, K., Jílková, D., Vorlová, L.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

V této práci byly stanoveny mastné kyseliny v 10 vzorcích UHT mléka na začátku skladování a poté znovu po 2 a 4 měsících skladování při pokojové teplotě (22 ± 2 °C). Mastné kyseliny byly stanoveny po konverzi na methylestery pomocí plynové chromatografie s plamenově-ionizační detekcí. Na začátku skladování činil obsah nasycených mastných kyselin (SAFA) v UHT mléce $59,1 \pm 7,4$ %, obsah mononenasycených mastných kyselin (MUFA) byl $24,8 \pm 10,3$ % a obsah polynenasycených mastných kyselin činil $3,2 \pm 0,9$ %. Během čtyř měsíců skladování UHT mléka došlo ke statisticky významnému ($p < 0,01$) zvýšení obsahu SAFA a MUFA, zatímco obsah PUFA se statisticky nevýznamně snížil.

Abstract

In this study, fatty acids were determined in 10 samples of UHT milk at the beginning of storing and then after two months and four months of storing at room temperature (22 ± 2 °C). Fatty acids were determined after conversion to methylesters by gas chromatography with a flame ionization detection. At the beginning of storage, the saturated fatty acid (SAFA) content in UHT milk was 59.1 ± 7.4 %, the content of monounsaturated fatty acids (MUFA) was 24.8 ± 10.3 % and the polyunsaturated fatty acid (PUFA) content was 3.2 ± 0.9 %. During four months of UHT milk storing, the content of SAFA and MUFA increased statistically significantly ($p < 0.01$). In contrast, the PUFA content decreased statistically insignificantly during four months of UHT milk storage.

Klíčová slova: *nasycené, mononenasycené, polynenasycené, SAFA, MUFA, PUFA*

Úvod

Mléčný tuk obsahuje kolem 400 různých mastných kyselin. Zastoupení mastných kyselin je důležitým determinantem technologických, senzoričkových a nutričních vlastností mléka. Procesy, které přispívají k přítomnosti mastných kyselin v mléce přežvýkavců, jsou mléčná lipogeneze a metabolismus lipidů v bachoru (Cozma et al., 2013).

V mléčném tuku je zastoupeno okolo 50 % mastných kyselin s krátkým a středním řetězcem ($C_4 - C_{14}$), druhá polovina je tvořena mastnými kyselinami s dlouhým řetězcem (C_{16} a více). Nasycené mastné kyseliny (SAFA) jsou přítomné v mléku okolo 70 %. Přibližně 25 % mastných kyselin mléce je mononenasycených (MUFA), 2,3 % je polynenasycených (PUFA), *trans*-mastné kyseliny tvoří 2,7 %. Nejdůležitější mastnou kyselinou je kyselina palmitová ($C_{16:0}$), která zaujímá v mléce 30 %, dále jsou zde kolem 12 % zastoupeny kyselina myristová ($C_{14:0}$) a kyselina stearová ($C_{18:0}$). Z mononenasycených mastných kyselin je v největší míře zastoupena kyselina olejová. Hlavními polynenasycenými mastnými kyselinami jsou kyselina linolová ($C_{18:2n6}$) a kyselina α -linolenová ($C_{18:3n3}$) (Homolka a Kudrna, 2007; Månsson-Lindmark et al., 2003).

Cílem této studie bylo sledovat změnu zastoupení mastných kyselin v UHT mléce v průběhu skladování od nákupu mléka po konec deklarované minimální trvanlivosti na obale.

Materiál a metodika

Vzorky mléka

Mastné kyseliny byly stanoveny v 10 vzorcích UHT mléka pocházejících z tržní sítě České republiky. Většina vzorků byla vyrobena v českých mlékárnách, pouze v jednom případě se jednalo o slovenského výrobce.

Mastné kyseliny byly ve vzorcích UHT mléka stanoveny ihned po zakoupení, což byl počáteční stav skladování mléka, které probíhalo za laboratorní teploty (22 ± 2 °C) ve tmě po dobu 4 měsíců, což odpovídalo konci doby minimální trvanlivosti uvedené na obale mléka. Mastné kyseliny byly ve vzorcích stanoveny opakovaně uprostřed doby skladování (po 2 měsících), a poté na konci skladování (po 4 měsících).

Stanovení mastných kyselin

Mastné kyseliny v mléčném tuku byly stanoveny na základě metody popsané v publikaci autorů Feng et al. (2004). Vzorek mléka byl nejprve opakovaně centrifugován za účelem získání mléčného tuku. Mastné kyseliny z mléčného tuku byly zmýdelněním pomocí methanolického roztoku KOH a následnou reesterifikací převedeny na methylestery, které byly vyextrahovány do hexanu. Získaný hexanový roztok vzorku byl podroben chromatografické separaci pomocí plynového chromatografu HP 6890 (Agilent, USA) na 100 m dlouhé koloně HP-88 (Agilent, USA) s následnou detekcí plamenově ionizačním detektorem (FID). Nosným plynem bylo helium, celková doba analýzy byla 35 min. Identifikace a kvantifikace mastných kyselin byla provedena na základě srovnání se standardem 37 mastných kyselin FAME Reference Standard (AccuStandard, USA). Konečné množství mastných kyselin ve vzorcích mléka bylo vyjádřeno procentuálním zastoupením jednotlivých mastných kyselin v mléce.

Statistické vyhodnocení

Obsah mastných kyselin v mléce na počátku skladování a po 2 a 4 měsících skladování byl vzájemně porovnán pomocí statistického programu Unistat (Londýn, UK), a to párovým t-testem.

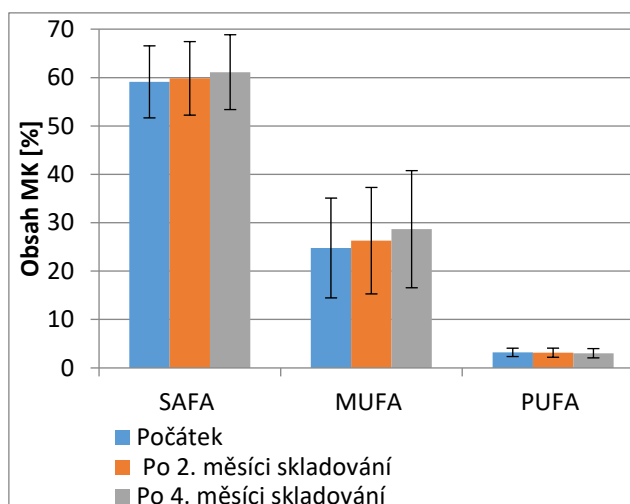
Výsledky a diskuse

Graf na obrázku 1 ukazuje souhrnnou dynamiku mastných kyselin (MK) v průběhu skladování. Je zřejmé, že obsah nejvíce zastoupených SAFA (obsah se pohybuje kolem 60 %) se v průběhu skladování zvyšoval. Po čtvrtém měsíci skladování došlo ke statisticky vysoce významnému ($p < 0,01$) navýšení obsahu SAFA vzhledem k počátečním hodnotám. Obsah MUFA se v UHT mléce pohybuje řádově mezi 20 a 30 %. V průběhu skladování se zastoupení MUFA postupně zvyšovalo, a to statisticky vysoce významně ($p < 0,01$) po druhém i čtvrtém měsíci skladování. Zastoupení PUFA v UHT mléce je řádově kolem 3-4 %. V průběhu skladování dochází k mírnému statisticky nevýznamnému poklesu.

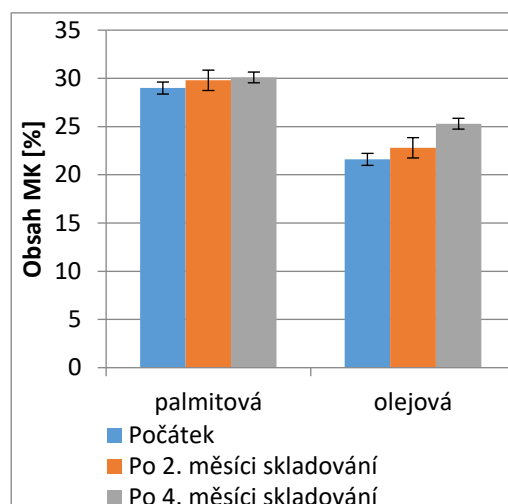
Na obrázku 2 je znázorněna dynamika dvou nejvíce zastoupených MK v UHT mléce, a to kyseliny palmitové a olejové. Jejich zastoupení v UHT mléce se pohybuje mezi 20 a 30 %. Obsah obou kyselin se během skladování mléka postupně zvyšuje, a to statisticky vysoce významně ($p < 0,01$). Podobné výsledky zjistili autoři Kunciewicz

et al. (2005), kteří také skladovali mléko při laboratorní teplotě (23 °C). Obsah kyseliny palmitové i olejové se v jejich studii velmi významně zvyšoval.

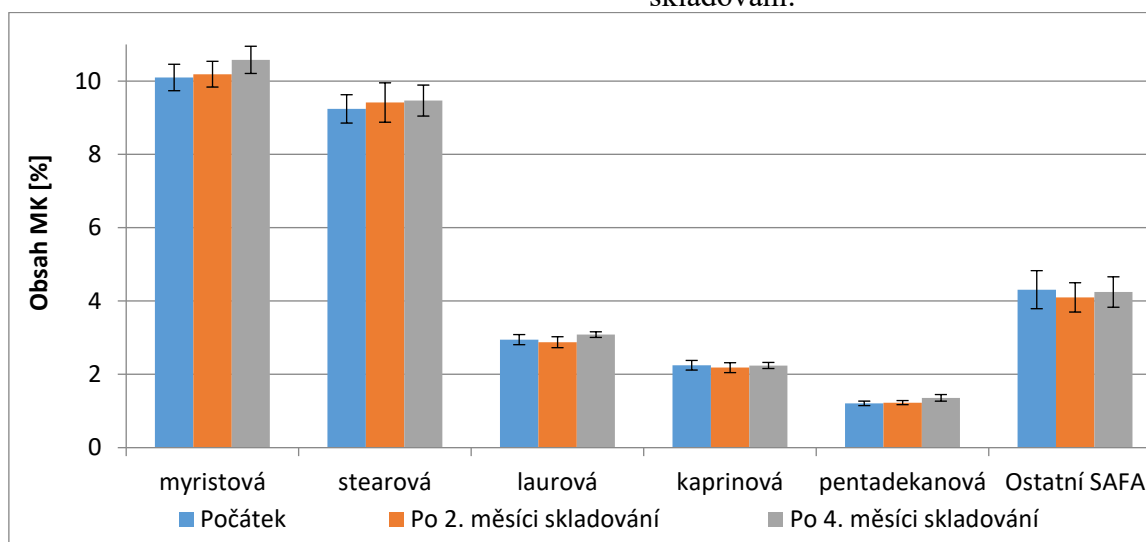
Graf na obrázku 3 představuje dynamiku dalších stanovených SAFA kromě kyseliny palmitové během skladování UHT mléka. Je zřejmé, že obsah dalších dvou významněji zastoupených MK, kyseliny myristové a stearové, se pohybuje v UHT mléce kolem 10 %. Obsah těchto dvou MK se během skladování mléka zvýšil, v případě kyseliny myristové statisticky vysoce významně ($p < 0,01$) po čtvrtém měsíci skladování. Nárůst kyseliny stearové nebyl statisticky významný podobně jako v práci autorů Kuncewicz et al. (2005). Obsah dalších SAFA se pohyboval řádově v jednotkách procent či méně.



Obrázek 1: Dynamika obsahu SAFA, MUFA a PUFA v UHT mléce během skladování



Obrázek 2: Dynamika obsahu dvou nejvíce zastoupených kyselin během skladování.

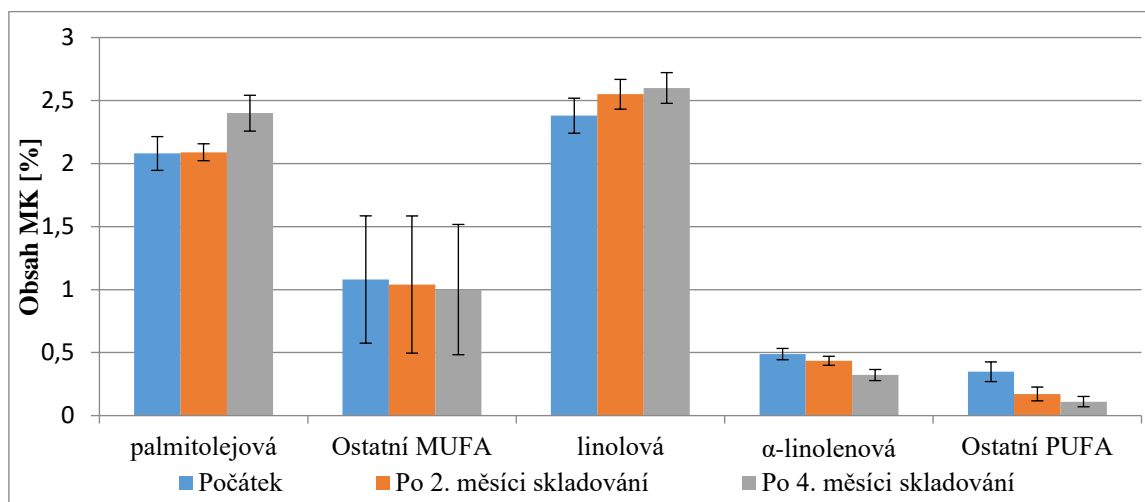


Obrázek 3: Dynamika obsahu dalších SAFA v UHT mléce během skladování.

Na obrázku 4 je znázorněna dynamika obsahu dalších stanovených MUFA kromě kyseliny olejové a také PUFA během skladování UHT mléka. Je zřejmé, že obsah kyseliny palmitolejové se po čtyřech měsících skladování statisticky vysoce významně ($p < 0,01$) navýšil. Podobně obsah kyseliny linolové se statisticky vysoce významně ($p < 0,01$) zvýšil již po dvou měsících skladování mléka a k dalšímu navýšení obsahu

došlo i po čtyřech měsících skladování. V práci autorů Kuncewicz et al. (2005) došlo také k navýšení obsahu kyseliny linolové během skladování mléka při laboratorní teplotě

(23 °C), ale zvýšení nebylo statisticky významné. Naopak zastoupení kyseliny α -linolenové se v průběhu čtyř měsíců skladování UHT mléka statisticky vysoce významně ($p < 0,01$) snížilo a podobně se snížilo i zastoupení dalších minoritních PUFA, kam patří je kyselina dihomo- γ -linolenová, γ -linolenová, EPA, linolelaidová a cis-11,14-eikosadienová.



Obrázek 4: Dynamika obsahu dalších MUFA a PUFA v UHT mléce během skladování.

Závěr

Z výsledků naší studie vyplývá, že v UHT mléce jsou nejvíce zastoupeny nasycené mastné kyseliny a nejméně polynenasycené mastné kyseliny. Během skladování mléka dochází k nárůstu obsahu nasycených a mononenasycených mastných kyselin, zatímco zastoupení polynenasycených mastných kyselin se snižuje. Proto ze zdravotního hlediska je lepší konzumace UHT mléka na počátku skladování zejména z důvodu vyššího zastoupení kyseliny α -linolenové a dalších polynenasycených mastných kyselin než na konci jeho minimální trvanlivosti.

Literatura

- Cozma, A., Miere, D., Filip, L., Andrei, S., Banc, R., Loghin, F. (2013) A Review of the Metabolic Origins of Milk Fatty Acids. *Notulae Scientia Biologicae*, vol. 5, no. 3, p. 270-274.
- Feng, S., Lock, Al., Garnsworthy, PC. (2004) A rapid lipid separation method for determining fatty acid composition of milk. *Journal of Dairy Science*, vol. 87, p. 3785-3788.
- Homolka, P., Kudrna, V. (2007) *Zvýšení obsahu prospěšných polynenasycených mastných kyselin mléka výživou zvířat*. Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha, p. 42. ISBN 978-80-86454-87-0.
- Kuncewicz Pk., Kuncewicz A., Juškiwicz. (2005) Influence of storage conditions on changes in the fat fraction of UHT milk. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, vol. 14/55, no. 4, p. 314-348.
- Månsson-Lindmark, H., Fondén, R., Petersson, H.E. (2003) Composition of Swedish dairy milk. *International Dairy Journal*, 13, p. 409-425.

Kontaktní adresa

Ing. Klára Bartáková, Ph.D., VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie mléka, Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno, e-mail: bartakovak@vfu.cz

Analyza texturálneho profilu Spišských párkov *Analysis of the textural profile of Spiš Frankfurters*

Belej, E., Golian, J., Čurlej, J., Šnirc, M., Chomová, K.
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

Analyzovali sme vzorky Spišských párkov od slovenských výrobcov, ktorí majú na Slovensku povolenie na výrobu. Analýzu sme vykonávali pomocou prístroja texturometer TA.XT plus. Meranie sme uskutočnili na vzorkách, ktoré neboli tepelne upravené. Pri meraní sme sledovali priemerné hodnoty pevnosti vzorky a priemerné hodnoty práce v strihu. Výsledky pri jednotlivých vzorkách boli rôzne. Najvyššie priemerné hodnoty dosahovala vzorka J. Priemerná hodnota pevnosti tejto vzorky bola 42,000 N a priemerná hodnota práce v strihu bola 250,113 N.s⁻¹. Naopak najnižšie priemerné hodnoty mala vzorka číslo CH. Priemerná hodnota pevnosti tejto vzorky bola 15,988 N a priemerná hodnota práce v strihu bola 92,756 N.s⁻¹. Celková priemerná hodnota pevnosti zo všetkých priemerných hodnôt analyzovaných vzoriek bola 25,539 N a hodnota práce v strihu bola 179,790 N.s⁻¹.

Abstract

We analyzed samples of Spiš Frankfurters from Slovak producers who are authorized to produce them. For the analysis we used the texture analyzer TA.XT plus. Measurement was performed on samples that were not heat treated. We measured the average values of the sample fortress and the average values of the shear. The results for the individual samples were different. The highest average had the sample J. The average fortress of this sample was 42,000 N and the average shear value was 250,113 N.s⁻¹. On the other hand, the lowest average values had sample CH. The average strength of this sample was 15.988 N and the average shear value was 92.756 N.s⁻¹. The total average of fortress, from all average values of the analyzed samples, was 25.539 N and the shear value was 179.790 N.s⁻¹.

Keywords: *meat, meat product, Spiš Frankfurters, food texture*

Úvod

Mäsové výrobky sú produkty z celého, posekaného alebo mletého, prípadne separovaného mäsa jatočných zvierat, hydiny, zveriny a rýb. Sú určené na priamu konzumáciu, alebo konzumáciu po čiastočnej kuchynskej úprave. Podľa druhu daného výrobku sa na ich výrobu používajú okrem čerstvého, surového mäsa, vnútornosti a krvi aj ďalšie suroviny, akými sú napr. múka, vajcia, zelenina, syry, slanina, rôzne koreniny, soľ a voda (Jevinová et al., 2013). V posledných rokoch prebieha významný rozvoj rôznych funkčných ingrediencií pre optimalizáciu kvality a textúry mäsových výrobkov. Využívajú sa zložky rastlinného pôvodu rovnako ako aj živočíšneho pôvodu. Medzi najčastejšie využívané živočíšne zložky patrí krv, plazma, mliečne proteíny a kolagén. Kolagén sa získava z bravčového, hydinového, hovädzieho mäsa, ale aj z kože rýb. Kolagén neobsahuje všetky esenciálne aminokyseliny, avšak je bohatý na aminokyseliny ako sú glycín, hydroxyprolín a prolín, ktoré chýbajú v ostatných proteínoch a ich syntéza je energeticky veľmi náročná (Petrašová et al., 2016). Systém pre zaručené tradičné špeciality bol zavedený s cieľom chrániť tradičné spôsoby výroby

a recepty prostredníctvom pomoci určenej výrobcom tradičných výrobkov pri uvádzaní výrobkov na trh a pri informovaní spotrebiteľov o charakteristických znakoch ich tradičných receptov a výrobkov, ktoré predstavujú pridanú hodnotu (Marcinčák et al, 2014).

Textúra je definovaná ako senzorická a funkčná manifestácia štruktúrnych, mechanických a povrchových vlastností potravín, určiteľných pomocou vizuálnych, sluchových, dotykových a kinestetických zmyslov (Štetina, 2007).

Sledovanie textúry nie je len výhodné u konečného výrobku, ale tiež pri výrobe, kde možno z technologického hľadiska textúru konečného výrobku ovplyvniť, udržať stálu kvalitu a tým zamedziť finančným stratám plynúcim z neštandardnej výroby a prípadné straty segmentu trhu (Terpstra et al., 2005).

Znalosť fyzikálno-chemických vlastností pre dané potravinové materiály použité pri výrobe mäsových výrobkov je potrebná pre adekvátny návrh spracovania, ako aj pre kontrolu a zlepšenie kvality konečného produktu. Konečný vzhľad a chuť výrobku je hlavným atribútom kvality vnímaný spotrebiteľom (Lato et al., 2014).

Materiál a metodika

V našej práci sme analyzovali výrobky všetkých zaregistrovaných výrobcov Spišských párkov. Pri každej vzorke sme vykonali desať opakovaných meraní. Pomocou texturometra TA.XT plus so sondou Warner - Bratzlerov nôž sme vykonávali meranie pevnosti a práce potrebnej na prekrojenie vzoriek párkov. Texturometer sme mali nastavený nasledovne:

rýchlosť pohybu sondy pred testom: $1,5 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$

rýchlosť pohybu sondy počas testu: $1,5 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$

rýchlosť pohybu sondy po ukončení testu: $10,0 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$

hĺbka prieniku sondy do vzorky: 30 mm

rýchlosť získavania údajov: 200 pps

Zloženie a označenie jednotlivých výrobkov:

Výrobok A

Zloženie: bravčové mäso (min.48 %), hovädzie mäso (min.21 %), bravčový tuk, bravčové kože, voda, soľ, stabilizátory E250, E450, prírodné koreniny, antioxidant E300, baranie črevá.

Výrobok B

Zloženie: bravčové mäso 59 %, hovädzie mäso 21,2 %, voda 21 %, bravčové kože 12 %, soľ, dextróza, škrob, stabilizátor E451, antioxidant E316, zmes korenín do 2 %.

Výrobok C

Zloženie: bravčové a hovädzie mäso 54 %, pitná voda, bravčové kože, škrobový stabilizátor E466, želirujúca látka E407 a zahusťovadlo E412, konzervačné látky E250, E262, sójová bielkovina, koreniny a extrakty korenín, stabilizátory E450, E452, dextróza, glukóza, antioxidant E300, zvýrazňovač chuti E621, farbivo E120, sladká a páľivá mletá paprika, jedlá soľ, baranie črevo.

Výrobok D

Zloženie: bravčové a hovädzie mäso min. 71 %, bravčová slanina, pitná voda, bravčové kože, jedlá soľ, konzervačné látky: dusitan sodný, octany sodné, zmes korenia a extrakty korenia, zvýrazňovač chuti: glutaman sodný, antioxidant: kyselina askorbová, živočišna (bravčová) bielkovina, farbivo: karmín, stabilizátory: difosforečnany, trifosforečnany), cesnak. Výrobok plnený do baranieho čreva.

Výrobok E

Zloženie: bravčové mäso (48 %), hovädzie mäso (21 %), bravčový tuk, bravčové kože, pitná voda, dusitanová soliaca zmes (jedlá soľ, konzervačná látka E 250), paprika mletá sladká, paprika mletá pálivá, stabilizátory E450, E451, antioxidant E300/ v baranom čreve.

Výrobok F

Zloženie: bravčové mäso 50 %, hovädzie mäso 21 %, bravčové kože, bravčová slanina, pitná voda, soľ, konzervačná látka E250, stabilizátory E450, E451, paprika sladká a paprika pálivá, antioxidant E300.

Výrobok G

Zloženie: bravčové mäso 56 %, hovädzie mäso 24 %, pitná voda, bravčové kože, jedlá soľ, paprika sladká mletá, paprika pálivá mletá, stabilizátor E450, antioxidant E300, konzervačná látka E250. Plnené do prírodného baranieho čreva. Výrobok sa odporúča pred konzumáciou ohriať, nie variť.

Výrobok H

Zloženie: bravčové mäso 59 %, hovädzie mäso 21 %, pitná voda, bravčové kože, soliaca zmes (jedlá soľ, konzervačná látka E250), stabilizátor E 450, prírodné koreniny (paprika sladká, paprika pálivá), antioxidant E300. Plnené do baraních čriev.

Výrobok CH

Zloženie: bravčové mäso 49 %, hovädzie mäso 21 %, bravčové kože, bravčový tuk, pitná voda, antioxidant E300, konzervačná látka E250, jedlá soľ, pálivá paprika a paprika sladká, stabilizátor E450 a E451.

Výrobok I.

Zloženie: bravčové mäso 52 %, pitná voda, hovädzie mäso 15 %, bravčové kože, zemiakový škrob, jedlá soľ, konzervačná látka E250, cukor, dextróza, škrobový sirup, 0,6 sladká paprika, stabilizátor E450, E451, stimulátor chuti E621, extrakty korenín, antioxidant E300, E316, cesnak, prírodné črevo. Bezlepkový výrobok.

Výrobok J

Zloženie: bravčové a hovädzie mäso 96 % (ČSB min.10 %, paprika sladká, paprika štiplavá, cesnak, pitná voda, jedlá soľ.

Výrobok K

Zloženie: bravčové mäso 48 %, hovädzie mäso 21 %, bravčový tuk, bravčové kože, pitná voda, jedlá soľ, konzervačná látka E 250, paprika sladká, paprika pálivá, stabilizátory E450, E451, antioxidant E300. Plnené do baraních čriev.

Výrobok L

Zloženie: bravčové mäso 59 %, hovädzie mäso 21 %, voda, bravčové kože 12 %, dusitanová soliaca zmes (jedlá soľ, konzervačná látka - dusitan sodný, cukor, škrobový sirup, dextróza), paprika pálivá, paprika sladká, stabilizátor: difosforečnany, antioxidant: kyselina askorbová, jedlé baranie črevo. Bravčové a hovädzie mäso – krajina pôvodu: EÚ.

Výrobok M

Zloženie: bravčové mäso 50 %, hovädzie mäso 21 %, bravčové kože, bravčový tuk, pitná voda 8%, dusitanová soliaca zmes (jedlá soľ, konzervačná látka: dusitan sodný), koreniny: paprika mletá sladká, paprika mletá pálivá, stabilizátory: fosforečnany, antioxidant: kyselina askorbová.

Výrobok N

Zloženie: bravčové mäso 59 %, hovädzie mäso 21 %, pitná voda, jedlá soľ, konzervačná látka E250, paprika sladká a paprika pálivá, stabilizátor E450, antioxidant E 300. Konzumácia po tepelnej úprave.

Výrobok O

Zloženie: bravčové mäso (59 %), hovädzie mäso (21,2 %), bravčové kože, pitná voda, dusitanová soliaca zmes, (jedlá soľ, stabilizátor dusitan sodný), zmes korenia, stabilizátory: dihydrogéndifosforečnan sodný, trifosforečnan pentasodný, antioxidant kyselina askorbová, plnené v jedlom baraňom čreve.

Výsledky a diskusia

Pri meraní pevnosti sme identifikovali najvyššie priemerné hodnoty pevnosti pri vzorke s označením J, a jej hodnota bola 42,00 N.

Naopak najnižšie namerané priemerné hodnoty sme zistili pri vzorke s označením CH. Táto vzorka dosahovala priemernú hodnotu pevnosti 15,988 N. Pevnosť výrobku môže ovplyvňovať množstvo rôznych činiteľov, ktoré môžu zmeniť celkovú pevnosť konečného výrobku (Galvão et al., 2011).

Všetky vzorky Spišských párkov, ktoré sme hodnotili pochádzali od rôznych slovenských výrobcov. Dané výsledky, ktoré sme pri analýze dosiahli jasne poukazujú na rozdielne texturálne vlastnosti párkov napriek tomu, že receptúra na výrobu je presne definovaná. Niektoré analyzované vzorky dosahovali vyššie hodnoty v pevnosti a taktiež vyššie hodnoty pri práci v strihu, niektoré mali zasa nižšie priemerné hodnoty (Tabuľka 1).

Tabuľka 1: Výsledky texturálneho profilu jednotlivých vzoriek Spišských párkov

Vzorka	Pevnosť (N)	Práca v strihu (N.s ⁻¹)
Vzorka A	26,506	205,587
Vzorka B	24,045	213,292
Vzorka C	23,325	146,389
Vzorka D	17,597	107,888
Vzorka E	22,288	143,232
Vzorka F	20,358	138,440
Vzorka G	24,723	200,409
Vzorka H	27,109	230,687
Vzorka CH	15,988	92,756
Vzorka I	24,232	143,763
Vzorka J	42,000	250,113
Vzorka K	26,173	164,553
Vzorka L	35,438	286,877
Vzorka M	23,176	175,669
Vzorka N	30,082	204,148
Vzorka O	33,201	233,036
Priemer	25,539	179,790
Smerodajná odchýlka	6,239	50,811
Variačný koeficient	24,429	28,261

Textúra mäsových výrobkov je ovplyvnená spracovaním a receptúrou, u mäkkých mäsových výrobkov je to jeden z najdôležitejších parametrov a je v úzkom vzťahu s obsahom tuku a väznosti vody mäsového diela. Veľký vplyv na textúru má solenie. Pokiaľ je množstvo pridanej soli k mäsovému dielu redukované, znižuje sa množstvo rozpustných myofibrilárnych bielkovín a dochádza k poklesu väznosti vody a pevnosti vzniknutého gélu (Horita et al., 2014).

Záver

Testovanie kvality a textúry mäsových výrobkov patriacich do kategórie zaručených tradičných špecialít je veľmi dôležité z hľadiska overenia ich autenticity, falšovania ako aj pre zabezpečenie požiadaviek trhu a spracovateľského priemyslu, nakoľko takéto výrobky musia byť vyrobené s použitím tradičných surovín, alebo musia byť charakterizované tradičným zložením, spôsobom výroby, spracovaním odrážajúcim tradičný typ výroby alebo spracovania.

Literatúra

- Galvão, A., Pereira, A., Ramos, E. M., Teixeira, J. T., Cardoso, G. P., Ramos, A. L. S., Fontes, P. R. 2011. Effects of the addition of mechanically deboned poultry meat and collagen fibers on quality characteristics of frankfurter-type sausages. In *Meat Science*, roč.89, 2011, vol. 4, pp. 519-525. ISSN 0309-1740
- Horita, C. N., Messias, V. C., Morgano, M. A., Hayakawa, F. M., Pollonio, M. A. 2014: Textural, microstructural and sensory properties of reduced sodium frankfurter sausages, containing mechanically deboned poultry meat and blends of chloride salts. In *Food Research International* vol.66, pp. 29-35.
- Jevinová, P et al., 2013. *Tovarnoznalectvo potravín živočíšneho a rastlinného pôvodu*, Košice: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 2013, 308 s., ISBN 978-80-8077-372-4.
- Marcinčák, S., Sokol, J., Turek, P., Popelka, P. Nagy, J. 2014. Hodnotenie kvality Spišských párkov na Slovenskom a Českom trhu. In *Maso*. ISSN 1210-4086, 2014, č.6, s. 27-30.
- Petrašová, M., Zichová, E., Pospiech, M. 2016. Possibilities of microscopics detection of isolated porcine proteins in model met products. In *Potravinárstvo*. In *Scientific Journal for Food Industry*, vol. 10. no. 1, 2016.s. 195-201.
- ŠTĚTINA, J. 2007. Fyzikální vlastnosti potravin [online]. Poslední úpravy 2.12.2007, [citováno 12.2.2008]. Dostupné z World Wide Web: <http://www.vscht.cz/tmt/studium/FVP/index.html>.
- Terpstra, M. E. J. et al., 2005. Modelling of thickness in semisolid foods, *Journal of Texture Studies*, 2005, č. 36, s. 213-233.
- Lato, L. P. et al. 2014. Effects of temperature immersion time on rehydration of osmotically treated pork meat. In *Journal of Food and Nutrition Research*, vol. 53.no 3.2014. pp .260-270. ISSN 1336-862

PodĎakovanie

Táto práca bola podporená projektov VEGA č. 1/0276/18.

Kontaktná adresa

Ing. Ľubomír Belej PhD. Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: lubobelej@gmail.com

Prehľad kvalitatívnych parametrov oštiepkov vyrobených na Slovensku

An overview of quality parameters of Oštiepok cheeses made in Slovakia

Benešová, L., Golian, J., Zajác, P., Drdolová, Z., Belej, Ľ.
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

V celkovej kvalite syra zohráva dôležitú úlohu jeho chuť a prítomnosť senzorických nedostatkov v jeho chuti môže významne ovplyvniť jeho kvalitu. Hodnotenie organoleptických vlastností umožňuje určiť chuťový profil a aj preferenciu spotrebiteľov k týmto výrobkom. Na základe analýzy texturálnych vlastností môžu výrobcovia tieto vlastnosti sledovať a upravovať ich v procese výroby mliečnych výrobkov. Hlavné zložky mlieka majú taktiež významný vplyv na štruktúru syra. Nakoľko je kravské mlieko podstatne lacnejšie ako ovčie alebo kozie mlieko, zvýšil sa aj počet prípadov falšovania výrobkov z tohto druhu mlieka nedeklarovanou prímесou kravského mlieka. Cieľom tejto štúdie bola analýza senzorických vlastností pomocou hodnotiteľov, texturálnych vlastností pomocou texturometra, analýza zloženia referenčnými metódami a analýza druhového zastúpenia mlieka v oštiepkoch pomocou DNA microarray metód.

Abstract

In the overall quality of cheese, its taste plays an important role, and the presence of sensory deficiencies in its taste can significantly affect its quality. The assessment of the organoleptic characteristics makes it possible to determine the taste profile and consumer preference for these products. Based on the analysis of textural properties, manufacturers can monitor these properties and modify them in the dairy production process. The main components of milk also have a significant effect on the cheese structure. As cow's milk is considerably cheaper than ewe's or goat's milk, the number of cases of falsification of this milk product has also increased by undeclared cow's milk. The aim of this study was to analyze sensory properties with the help of evaluators, textural properties by texturometer, compositional analysis by reference methods, and analysis of the species representation of milk in the oštiepok cheeses by DNA microarray methods.

Keywords: *oštiepok cheese, composition, texture, species identification, organoleptic properties*

Úvod

Slovenský oštiepok je tradičný polotučný syr vyrobený na Slovensku. Základnou surovinou na výrobu Slovenského oštiepka je ovčie mlieko, zmes ovčieho a kravského mlieka alebo kravské mlieko. Slovenský oštiepok sa vyrába, buď priamo na malej ovčej farme v horských oblastiach s použitím tradičnej výrobnéj metódy alebo v mliekarňach pomocou priemyselnej metódy. Zloženie závisí od použitej suroviny a spôsobu výroby, musí mať minimálne 48 % sušiny a minimálny obsah tuku v sušine 38,0 hmot. % (Rada Európskej únie, 2007).

Jedná sa pôvodne o ovčí syr, vyrábaný na salašoch, ktorý je dnes vyrábaný väčšinou priemyselne z kravského mlieka alebo zmesi oboch druhov mlieka (Selecký, 2013).

Vnímanie kvality potravín spotrebiteľmi je odlišné a silne závisí od osobných preferencií, ako je úroveň skúseností, kultúrne vplyvy, demografické a fyziologické charakteristiky, vnímanie pravosti výrobkov a očakávania kvality. Môže byť ovplyvnené niekoľkými faktormi, napr. pôvodom značky, cenou, výživovými informáciami a tradičnými technologickými postupmi (Supeková et al., 2008).

V súčasnej dobe sa zdá, že spotrebiteľom chutia viac syry zo surového mlieka. Chuť týchto produktov je intenzívnejšia a rôznorodá v porovnaní so syrom, vyrobeným z pasterizovaného mlieka (Yohan et al., 2016).

Syrová aróma je určená vnímaním kombinácie veľkého množstva prchavých a neprchavých zlúčenín v určitej rovnováhe (Le Quééré, 2004).

Chuť má tendenciou byť silnejšou a špecifickejšou v syroch zo surového mlieka, ako v pasterizovaných (Barron et al., 2007).

Osoby, ktoré majú senzorickejšiu analýzu vykonávať (tzv. posudzovatelia), musia byť pre svoj účel vyškolení a úroveň ich vedomostí, schopností a zručností sa monitoruje a vyhodnocuje. Na rozdiel od bežného spotrebiteľa, môžu o výrobku poskytnúť detailné informácie, ktoré možno využiť pri vývoji produktu (Buňka et al., 2008; Behen, 2005).

Textúra je jednou z najdôležitejších charakteristík syra pre prijateľnosť spotrebiteľov. Je výrazne ovplyvnená faktormi, ako je typ mlieka, technológia spracovania, teplota prevádzky a doba dozrievania (Tsigkros et al., 2003).

Chemické zloženie čerstvého ovčieho mlieka sa mení v priebehu času a medzi zvieratami v závislosti od viacerých faktorov, ako je napríklad obdobie laktácie, hierarchie, sezóny, teploty prostredia, veku a výživy zvierat, genetických faktorov (druh a plemeno) a mastitíd (Claeys et al., 2014).

Výživová hodnota ovčieho mlieka je vyššia, ako u kozieho a kravského mlieka, s vyšším obsahom bielkovín, lipidov, minerálnych látok a vitamínov nevyhnutných pre ľudské zdravie, a kalorickej hodnoty zodpovedajúcej 5 932 kJ.kg⁻¹ (Barłowska et al., 2011).

Vysledovateľnosť Slovenského oštiepka je jedným zo základných princípov systému HACCP. Identifikácia výrobku je zabezpečená uvedením výrobcu na obale, respektíve výrobnom štítku výrobku, ktorý je povinný nalepiť každý výrobca (Rada Európskej únie, 2007).

V nadväznosti na validačné usmernenia Vedeckej pracovnej skupiny pre metódy analýzy DNA (SWGDM) vykonali proces validácie súpravy Low Cost and Density (LCD) Array (verzia MEAT 5.0) pre forenznú analýzu potravín založenú na technológii biočip DNA, ktorá súčasne deteguje 24 druhov zvierat. Zmesi živočíšnych druhov, ktoré kit dokáže detegovať, boli pripravené v rôznych koncentráciách a testované na surových/pasterizovaných a tepelne ošetrovaných mäsových a mliečnych matriciach (Beltramo et al., 2017).

Materiál a metodika

Naša štúdia bola zameraná na charakteristiku a autentifikáciu 19 vzoriek oštiepkov. Podľa údajov na etikete od daného výrobcu boli vyrobené z ovčieho mlieka. Senzorickej analýzy

sa zúčastnilo 13 školených hodnotiteľov. Analyzovali vizuálne atribúty (farba, celkový vzhľad), texturálne vlastnosti (konzistencia, vŕzganie pri zahryznutí), pachy (syrový, po zaúdení), chute (slaná, po zaúdení, celková chuť, iná cudzia chuť) a celkový dojem. Hodnotiteľom boli predložené formuláre, v ktorých prideliť jednotlivým vzorkám syrov body, ktoré boli v rozmedzí 1 – 10. Ako neutralizátor chuti bola podávaná

neperlivá voda a chlieb. Pri skúšaní texturálnych vlastností bol použitý texturometer TA.XT Plus (Stable Micro Systems). Z každej vzorky oštiepka sa odkrojila kôra a zo vzorky sa nakrájalo 30 kociek veľkosti 1x1 cm. 15 kociek reprezentovalo strednú časť a 15 kociek okrajovú časť oštiepka. Meranie sa opakovalo pre každý oštiepok 30-krát, so zameraním na ukazovatele: tvrdosť (g) a konzistencia syra ($\text{g}\cdot\text{s}^{-1}$). Analýza oštiepkov bola vykonaná referenčnými metódami v Národnom referenčnom laboratóriu pre mlieko a mliečne výrobky v troch opakovaníach. Zamerali sa na obsah tuku, bielkovín, laktózy, sušiny, popola, soli a ostatných minerálnych látok. Výsledky senzorickej, texturálnej analýzy a zloženia boli vyhodnotené pomocou štatistického softvéru (XLSTAT, v. 2018.1, Addinsoft, USA). Na autentifikáciu, či oštiepky obsahujú prímies, výrobcom nedeklarovanej živočíšnej zložky bol použitý LCD čip Meat 5.0.

Výsledky a diskusia

Chuť syra je výsledkom rovnováhy medzi prchavými a neprchavými chemickými zlúčeninami mliečného tuku, bielkovín a sacharidov počas zrenia syra (Hayaloglu et al., 2013).

Aromatické zložky v potravinách zohrávajú veľmi dôležitú úlohu v ich kvalite (Attaie, 2009).

Textúra syrov, najmä pevnosť a zmyslové vlastnosti, sa mení počas procesu dozrievania (Forde et al., 2000).

V našej štúdií bolo skúmaných 19 vzoriek oštiepkov vyrobených v rôznych regiónoch Slovenska. Z výsledného grafu PCA (Principal component analysis) vyplynulo, že vzorky č. 2, 3, a 10 dosiahli najvyššie hodnotenie celkovej chuti a vzorky č. 4, 5, 6, 11 a 13 dosiahli najvyššie hodnotenie v celkovom vzhľade. Údené oštiepky mali lepšie senzoricke skóre v porovnaní s neúdenými oštiepkami.

Tabulka 1: Výsledky texturálnych vlastností oštiepkov

Ukazovateľ	Stredné časti oštiepku		Okrajové časti oštiepku	
	Tvrdosť (kg)	Konzistencia ($\text{kg}\cdot\text{s}^{-1}$)	Tvrdosť (kg)	Konzistencia ($\text{kg}\cdot\text{s}^{-1}$)
Priemer	1,279	1,007	1,343	1,000
SD	0,666	0,550	0,637	0,495
Cv (%)	52	55	47	50

SD – smerodajná odchýlka, CV (%) – variačný koeficient

Priemerné hodnoty vypočítané z 19 vzoriek oštiepkov sú uvedené v Tab. 1 a predstavujú štandardné hodnoty pre oštiepok. Neexistoval žiadny významný rozdiel ($p = 0,301$) medzi strednými a okrajovými časťami syrov v parametri tvrdosti a taktiež neexistoval žiadny významný rozdiel ($p = 0,819$) medzi strednými a okrajovými časťami syra v parametri konzistencie. Výsledky zloženia oštiepkov boli stanovené štandardnými laboratórnymi metódami v Národnom referenčnom laboratóriu pre mlieko a mliečne výrobky. Na základe Kruskal-Wallis ANOVA testu štatistickej metódy sa zistilo, že jednotlivé produkty boli štatisticky odlišné ($p < 0,001$) vo všetkých atribútoch. Priemerné hodnoty zloženia oštiepkov boli: sušina 58 hmotn. %, tuk v sušine 49 %, tuky $28,42 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$, sacharidy $1,81 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$, proteíny $22,62 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$, NaCl $2,85 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$, ďalšie minerálne látky $1,83 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$.

Výsledky druhovej identifikácie sú uvedené v Tab. 2. LCD čip Meat 5.0., ktorý bol na

Tabuľka 2: Výsledky analýzy druhovej identifikácie vzoriek oštiepkov

Vzorka č.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Hovädzi dobytok					X	X		X											
Ovca	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Koza		X	X		X		X			X	X	X	X			X		X	X
Ťava		X																	
Ošípaná		X		X	X	X		X	X	X	X	X		X	X	X	X		
Sliepka				X								X							

analýzu použitý detegoval prítomnosť aj iných živočíšnych druhov. Niektoré druhy zvierat ako hovädzi dobytok, koza, ošípaná, sliepka a ťava, ktoré čip zachytil sa môžu vo výrobkoch vyskytovať, nakoľko na výrobu oštiepkov sa používa syridlo získané zo žalúdka prežúvavcov, ošípaných a hydiny.

Jensen et al. (2013) vo svojej práci tvrdí, že ťaví chymozín oproti chymozínu z hovädzieho dobytku vykazuje 70 % vyššiu aktivitu zrážania mlieka.

Záver

Z výsledkov tejto práce vyplynulo, že väčšina nami vyšetrených oštiepkov spĺňala požiadavky uvedené v špecifikácii Slovenského oštiepka. U vzoriek číslo 4, 5, 6, 9, 14, 15

a 16 boli identifikované nedostatky vo vône, farbe a chuti. Údenie výrazne vplýva na celkový vzhľad a zmyslové vlastnosti oštiepkov. Údené oštiepky mali lepšie senzorické skóre v porovnaní s neúdenými oštiepkami. Vzorky č. 2, 3 a 10 dosiahli najvyššie hodnotenie celkovej chuti. Na základe výsledkov zo štatistickej analýzy sa zistilo, že neexistuje preukazný rozdiel medzi strednými a okrajovými časťami syrov v parametri tvrdosti a konzistencie. Rozdiely medzi oštiepkami mohli byť spôsobené ich rozdielnym zložením. Vo všetkých vzorkách oštiepkov bola zistená prítomnosť DNA živočíšnych druhov, ako je hovädzi dobytok, ošípaná, koza, ťava a sliepka, ktorá mohla pravdepodobne pochádzať zo živočíšneho syridla, ktoré sa použilo pri ich výrobe.

Literatúra

Attaie, R. 2009. Quantification of volatile compounds in goat milk Jack cheese using static headspace gas chromatography. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 92, no. 6, pp. 2435-2443.

Barłowska, J., Sz wajkowska, M., Litwinczuk, Z., Krol, J. 2011. Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. In *Compr Rev Food Sci Food Safety* [online], vol.10, iss. 6, pp. 291-302.

Barron, L. J. R., Redondo, Y., Flanagan, C. E., Pérez-Elortondo, F. J., Albisu, M., Nájera, I. A., De Renobales, M., Fernández-García, E. 2000. Comparison of the volatile composition and sensory characteristics of Spanish PDO cheeses manufactured from ewes' raw milk and animal rennet. In *International Dairy Journal* [online], vol. 15, iss. 4, pp. 371-382.

Behen, A. 2005. The role of trained panels in sensory analysis. In *International News on*

- Fats, Oils and Materials* [online], vol. 16, pp. 276-277.
- Beltramo, C., Riina, M. V., Acutis, P. L., Colussi, S. 2017. Validation of a DNA biochip for species identification on food forensic science. In *Food Control* [online], vol. 78, iss. 48, pp. 366-373.
- Buňka, František, Hrabě, Jan, Vospěl, Bohumír. 2008. *Senzorická analýza potravin*. Zlín : Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 145 p.
- Clayes, L. W., Verraes, C., Cardoen, S., De Block, J., Dewettinck, K., Huyghbaert, A., Herman, L., Raes, K. 2014. Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. In *Food Control* [online], vol. 42, no. 1, pp. 188-201.
- Forde, A., Fitzgerald, G. F. 2000. Biotechnological approaches to the understanding and improvement of mature cheese flavor. In *Current Opinion in Biotechnology* [online], vol. 11, iss. 5, pp. 484-489.
- Hayaloglu, A. A., Tolu, C., Yasar, K., Sahingil, D. 2013. Volatiles and sensory evaluation of goat milk cheese Gokceada as affected by goat breeds (Gokceada and Turkish Saanen) and starter culture systems during ripening. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 96, no. 5, pp. 2765-2780.
- Jensen, J. L., Mølgaard, A., Poulsen, J. C. N., Harboe, K. M., Simonsen, J. B., Lorentzen, A. M., Hjernø, K., Van Den Brink, J. M., Qvist, K. B., Larsen, S. 2013. Camel and bovine chymosin: the relationship between their structures and cheese-making properties. In *Biological Crystallography* [online], vol. 69, iss. 5, pp. 901-913.
- Le Quéré, J. 2004. Cheese flavour: instrumental techniques. In *Cheese: Chemistry, physics and microbiology* [online], vol. 1, iss. 4, pp. 489-510.
- Rada Európskej únie. 2007. Uverejnenie žiadosti v súlade s článkom 6 ods. 2 Nariadenia Rady (ES) č. 510/2006 o ochrane zemepisných označení a označení pôvodu poľnohospodárskych výrobkov a potravín. Nariadenie Rady (ES) č. 510/2006 „Slovenský oštiepok“. ES č.: SK/PGI/005/0549/30.03.2006. Úradný vestník Európskej únie. C 308, pp. 28-32.
- Selecký, Ján. 2013. *Slovenské syry*. 2. ed. Bratislava : Eko-Konzult. 326 p.
- SUPEKOVÁ, Soňa. 2008. Kvalita potravín a "značka kvality SK" z pohľadu spotrebiteľa. In *Trendy v potravinárstve* [online], vol. 15, č. 2, pp. 5-6.
- Tsigkros, D., Folland, E., Moate, R., Brennan, C. S. 2003. Feta cheese texture: the effect of caprine and ovine milk concentration. In *International Journal of Dairy Technology* [online], vol. 56, iss. 4, pp. 233-236.
- Yohan, Y., Soomin, L., Kyoung-Hee, C. 2016. Microbial benefits and risks of raw milk cheese. In *Food Control* [online], vol. 63, iss. 27, pp. 201-215.

PodĎakovanie

Práca bola podporená projektom VEGA 1/0276/18.

Kontaktná adresa

prof. Ing. Jozef Golian, Dr.
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
e-mail: Jozef.Golian@uniag.sk

Vývoj nových metod qPCR pro ověření kvality a autenticity potravin a krmiv

Development of new qPCR assays for verification of food and feed quality and authenticity

Bořilová, G., Nesvadbová, M., Králík, P., Petráková, M.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Cílem studie bylo vyvinout a zoptimalizovat citlivou a rychlou mutliplexní (quadruplexní) TaqMan qPCR metodu pro identifikaci DNA prasete domácího (*Sus scrofa*), tura (*Bos taurus*) a kura domácího (*Gallus gallus*) v rámci jedné analýzy. Čtvrtým cílem v reakci byla uměle připravená DNA, tzv. interní amplifikační kontrola (IAC) jako nezbytná součást diagnostické metody, která umožňuje odlišit falešně negativní a skutečně negativní vzorky. Vyvinutá qPCR metodika byla otestována na specifitu (inkluzivita a exkluzivita) a citlivost. Praktická využitelnost metody qPCR byla demonstrována při analýze složení vybraných potravin a krmiv.

Abstract

The aim of the study was to develop and optimize the sensitive and rapid quadruplex TaqMan qPCR method for the identification of the DNA of pig (*Sus scrofa*), bovine (*Bos taurus*) and chicken (*Gallus gallus*) in a single analysis. The fourth target in the reaction was an artificial DNA, the so-called internal amplification control (IAC), which an essential part of a diagnostic method that enables to distinguish between false-negative and truly negative samples. The developed qPCR methodology has been tested for specificity (inclusivity and exclusivity) and sensitivity. The practical applicability of the qPCR method was demonstrated in the analysis of the composition of selected foods and feeds.

Klíčová slova: *qPCR, multiplex, identifikace živočišných druhů, autenticita potravin*

Úvod

Ověření přítomnosti deklarovaných složek či stanovení nedeklarovaných přidaných složek, patří mezi základní kontrolní postupy hodnocení kvality a autenticity potravin. Metody molekulární biologie, které jsou založeny na analýze DNA, nabízí rychlé a citlivé testování překonávající řadu nedostatků dosavadních analytických postupů, mezi které patří např. mikroskopické analýzy nebo ELISA vyšetření. S nejvyšší efektivitou v současné době úspěšně využívá metody polymerázové řetězové reakce (PCR) a jejích modifikací - PCR-RFLP, qPCR, ddPCR, MOL-PCR a také metody sekvenování. Tyto metody umožňují rychlou a spolehlivou detekci a identifikaci původu živočišných komponent v jedno- i vícesložkových potravinách a krmivech, syrových surovin i produktů, které byly technologicky zpracovány (mechanické zpracování, vysoká teplota, příp. vysokotlaké ošetření) a DNA je tak vysoce fragmentována. Molekulárně genetické metody založené na analýze DNA představují vhodnou alternativu pro detekční identifikační testování nejčastějších složek (vepřové, hovězí a drůbeží svalovina/tkáně) v jednom kroku. Metoda qPCR je citlivá, rychlá

a v případě cíleného designu sond a správné optimalizaci a interpretaci výsledku vykazuje vysokou přesnost a opakovatelnost s nízkou chybovostí.

Materiál a metodika

V této studii, pro optimalizaci qPCR, byly použity vzorky vepřové svaloviny ($n = 20$), hovězí svaloviny ($n = 20$) a kuřecí svaloviny ($n = 20$) odebrané v jatečném provozu. Exkluzivita reakce byla testována na vzorcích tkání hospodářských, domácích a volně žijících zvířat ($n = 40$; např. buvol indický, ovce domácí, koza domácí, kůň domácí, srnec obecný, kachna domácí, husa domácí, krokodýl, liška obecná) a na vzorcích rostlinných druhů, které patří mezi časté komponenty v krmivech a zpracovaných potravinách živočišného původu ($n = 78$; např. brambory, rýže, hrách, špenát, chia semínka, slunečnice, pšenice, kukuřice, jablko, kmín). DNA vzorků byla extrahována pomocí DNeasy mericon Food Kit (Qiagen) dle obvyklého protokolu výrobce.

Primery a TaqMan sondy byly navrženy pomocí programu OLIGO v4.0 (National Biosciences Inc.) a syntetizovány v Generi-Biotech a Eurofins. Reakční směs se skládala z 10 μ l LightCycler® 480Probes Master (Roche), 0,05 μ M každého primeru (celkem 4 sady primerů; prase, tur, kur a IAC), 0,05 μ M každé sondy (celkem 4 sondy; FAM, HEX, ATTO425 a Cy5), 0,2 U Uracil-DNA-glykozylázy a 50 ng DNA v celkovém objemu 20 μ l. Podmínky PCR reakce byly následující: úvodní denaturace 7 min při 95 °C byla následována 47 cykly sestávajícími se z denaturace 5 s při 95 °C a annealingu/elongaci 30 s při 60 °C. V posledním cyklu byla reakční směs ochlazená na 40 °C po dobu 30 s. Reakce probíhala v termocykleru LightCycler® 480 System (Roche).

Výsledky a diskuze

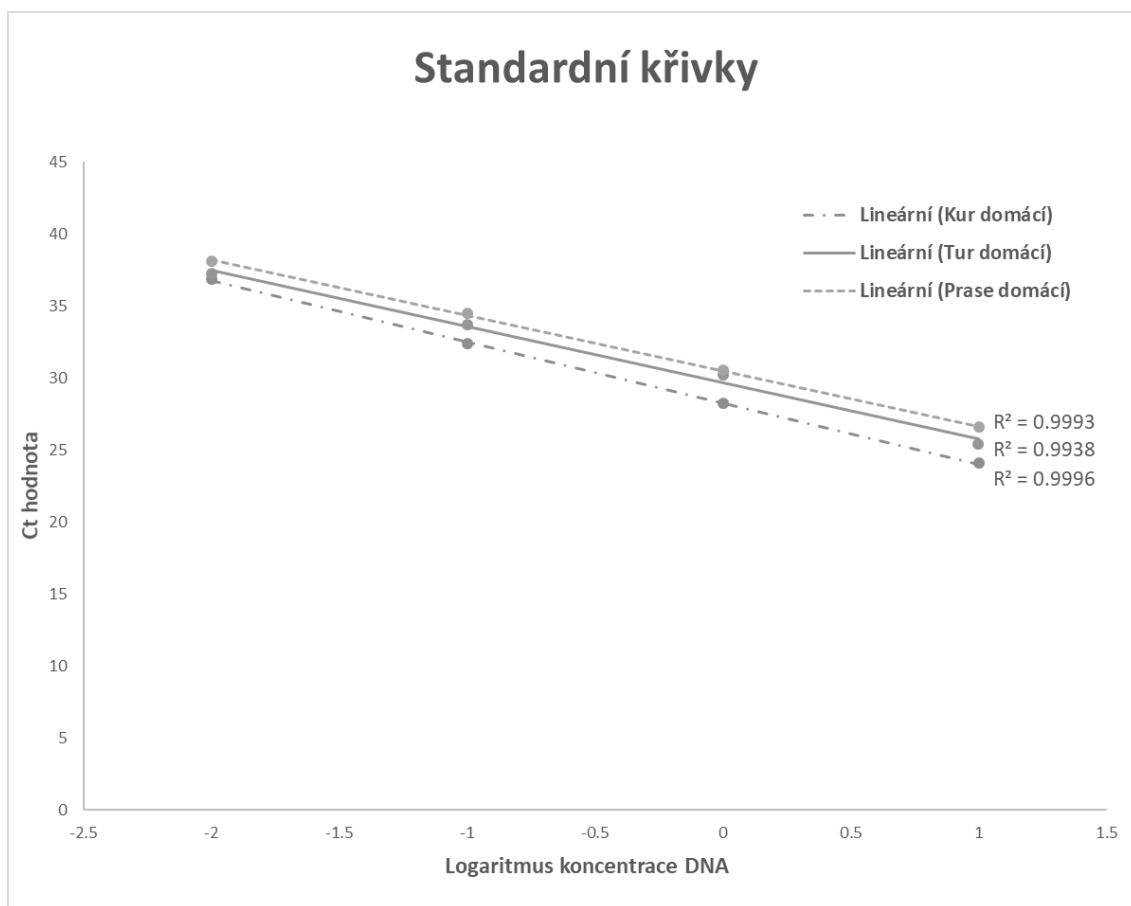
Při autentizaci a kontrole kvality potravin je třeba nalézt spolehlivé metody umožňující citlivou identifikaci a kvantifikaci DNA sledovaných živočišných druhů z neznámých vzorků. Proto byla vyvinuta velmi přesná a spolehlivá metoda multiplexní qPCR, jejichž princip je založen na identifikaci genomové DNA tří živočišných druhů (prase, tur a kur domácí) ve vzorcích potravin a krmiv. Testování inkluзивity a exkluzivity navržených primerů a sond prokázalo, že navržený qPCR systém je striktně specifický pro identifikaci uvedených druhů (Tab. 1).

Tabulka 1: Výsledky exkluzivity a inkluзивity testovaných primerů a sond

	esej prase domáci	esej tur domáci	esej kur domáci
maso vepřové ($n = 20$)	+	-	-
maso hovězí ($n = 20$)	-	+	-
maso kuřecí ($n = 20$)	-	-	+
hospodářská domácí a volně žijící zvířata ($n = 40$)	-	-	-
rostliny ($n = 78$)	-	-	-

Velikosti ampliconů byly v rozmezí 119 – 158 bp, což je nezbytné pro detekci cílů z potravin a krmiv, u nichž je DNA značně degradována vlivem mechanického

a tepelného opracování surovin (Dooley *et al.*, 2004). Výsledky ukázaly, že tento multiplexní qPCR systém lze využít pro identifikaci daných druhů nejen ve vzorcích různých typů tkáně (svalová tkáň, kosti, krev, vnitřní orgány), ale také ve vzorcích, které byly podrobeny experimentálnímu tepelnému opracování při teplotě 120 °C, 100 °C, 70 °C a 40 °C po dobu 10 min. V neposlední řadě, také testování komerčně dostupných krmiv (granule, konzervy, pamlsky) prokázalo spolehlivost této eseje. Bezpečnost krmiv pro zvířata v zájmovém chovu (psi a kočky) je velkým problémem zvláště u komerčně dostupných krmiv pro zvířata, která trpí alergiemi často způsobujícími chronická dermatologická a gastrointestinální onemocnění (Vogelnest & Cheng, 2013). Za běžný potravinový alergen u psů a koček je označováno kuřecí a hovězí maso (Raditic *et al.*, 2011). V současné době jsou pro taková zvířata na trhu dostupné diety obsahující obvykle jediný zdroj bílkovin, a proto je velmi důležité mít k dispozici spolehlivé metody, které dokáží potvrdit deklaraci složení anebo odhalit případné falšování.



Obrázek 1: Stanovení limitu detekce pomocí standardních křivek, včetně uvedení spolehlivosti

Důležitým parametrem, který je nezbytné stanovit při optimalizaci a standardizaci qPCR systému, je limit detekce (LOD), neboli citlivost qPCR reakce. Je to nejnížší

množství DNA, které lze opakovaně stanovit (označit výsledek jako pozitivní, tedy stanovovaná DNA je přítomna ve vzorku a je možné ji cíleně amplifikovat) s pravděpodobností vyšší než 95 %. Citlivosti stanovení jednotlivých druhů zvířat byly ověřeny pomocí standardních křivek, které byly vytvořeny z DNA templátů o známé koncentraci (Obr. 1). Pro všechny cílové druhy byl stanoven limit detekce 0,1 %.

Závěr

Metoda qPCR umožňuje detekovat i velmi malé množství DNA určitého živočišného druhu a proto je považována za vysoce efektivní nástroj pro testování v oblasti ověření správnosti deklarace masa, masných výrobků a krmiv. Multiplexní qPCR systém, který byl navržen v této studii, má velký potenciál jako molekulárně-genetický nástroj, který lze využít pro rychlou a rutinní detekci DNA prasete, tura a kura domácího, která je získána nejenom z jednosložkových, ale i vícesložkových syrových i zpracovaných potravin a krmiv. Představený qPCR systém umožňuje odlišit DNA analyzovaných druhů od fylogeneticky blízkých druhů anebo jiných zvířat a její detekční limit ji řadí mezi vysoce citlivé metody.

Literatura

Dooley, J. J., Paine, K. E., Garrett, S. D., & Brown, H. M. (2004). Detection of meat species using TaqMan real-time PCR assays. *Meat science*, 68(3), 431-438.

Raditic, D. M., Remillard, R. L., & Tater, K. C. (2011). ELISA testing for common food antigens in four dry dog foods used in dietary elimination trials. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 95(1), 90-97.

Vogelnest, L. J., & Cheng, K. Y. (2013). Cutaneous adverse food reactions in cats: retrospective evaluation of 17 cases in a dermatology referral population (2001–2011). *Australian veterinary journal*, 91(11), 443-451.

Poděkování

Tato práce realizována v rámci projektu QJ1530107 „Metody pro identifikaci, sledovatelnost a ověřování autenticity potravin a krmiv s komponenty živočišného původu“.

Kontaktní adresa

Ing. Gabriela Bořilová, Ph.D.
VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav hygieny a technologie masa
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno,
e-mail: gborilova@vfu.cz

Obsah biogenních aminů v pivech z českých minipivovarů *Biogenic amines content in beers from Czech small-size breweries*

Buňka, F., Černíková, M., Hýlková, A., Mišková, Z., Salek, R. N., Lorencová, E.
Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Souhrn

Cílem práce bylo analyzovat obsah biogenních aminů v pivech vyrobených na území České republiky v tzv. minipivovarech. Vzorkováno bylo celkem 115 piv pocházejících z 35 českých minipivovarů. Obsah biogenních aminů byl zjišťován pomocí kapalinové chromatografie se spektrofotometrickou detekcí po derivatizaci dansylchloridem. U každého piva byly analyzovány vzorky po zakoupení, následně byly další sklenice skladovány při 22 ± 2 °C a analyzovány na konci doby minimální trvanlivosti. V každém pivu byly detekovány alespoň dva biogenní aminy. Celkový obsah biogenních aminů přesáhl $100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ u 11 vzorků po jejich zakoupení a u 14 vzorků na konci doby minimální trvanlivosti.

Abstract

The aim of the study was to analyse biogenic amines content in beers produced in the Czech Republic in so called small-size breweries. A hundred and fifteen beers from 35 Czech small-size breweries were sampled. Liquid chromatography with spectrophotometric detection after dansylchlorid derivatisation was used for analysis. Samples were analysed after purchasing and also at the end of minimum durability (the storage at 22 ± 2 °C). At least 2 biogenic amines were identified in each of beer. The total amount of biogenic amines exceeded $100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ in 11 beers after purchasing and in 14 beers at the end of minimum durability, respectively.

Klíčová slova: *biogenní aminy, pivo, minipivovar, skladování*

Úvod

Pivo je v České republice nejvíce konzumovaným alkoholickým nápojem a v jeho pití patříme celosvětově na přední místa v žebříčku jejich spotřeby. V současné době je možné v Česku zaznamenat masivní nárůst počtu tzv. minipivovarů. Jedná se o pivovary s výstavem do 10 000 hl ročně, která nezdídká bývají součástí restauračních zařízení. Obecně se jedná o zařízení, která poskytují zajímavou škálu piv, zejména různých speciálů (ochucená piva, ovocná piva, speciálně kvašená piva), které velké pivovary z hlediska efektivity obvykle neposkytují.

Pivem se podle Vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 335/1997 Sb. (v platném znění) rozumí pěnivý nápoj vyrobený zkvašením mladiny připravené ze sladu, vody, neupraveného chmele, upraveného chmele nebo chmelových produktů, který vedle kvasným procesem vzniklého alkoholu (etylalkoholu) a oxidu uhličitého obsahuje i určité množství neprokvašeného extraktu. Slad lze do výše jedné třetiny hmotnosti celkového extraktu původní mladiny nahradit extraktem, zejména cukru, obilného škrobu, ječmene, pšenice nebo rýže; u piv ochucených může být obsah alkoholu zvýšen přidávkem lihovin nebo ostatních alkoholických nápojů (Česká republika, 1997).

Biogenní aminy (BA) jsou nízkomolekulární zásadité sloučeniny odvozené od aminokyselin. Podle chemické struktury lze BA rozdělit na alifatické (putrescin a kadaverin), aromatické (tyramin a fenyletylamin) a heterocyklické (histamin

a tryptamin). Spermin, spermidin a agmatin patří do skupiny polyaminů, které někteří autoři z množiny biogenních aminů vyčleňují, naopak někteří je považují za součást biogenních aminů. V potravinách a nápojích vznikají BA z volných aminokyselin zejména dekarboxylázovou aktivitou mikroorganismů (Spano a kol., 2010). Nadměrný příjem BA může způsobit řadu zdravotních problémů. Nejčasněji se jedná o bolesti hlavy, kolísání krevního tlaku, dýchací potíže, zvracení aj. Malé koncentrace BA jsou v lidském těle metabolizovány bez podstatných negativních vlivů na organizmus, zejména činností komplexu enzymů zahrnujícím monoaminoxidázu, diaminoxidázu a histidinmetyltransferázu (Halász a kol., 1994; Spano a kol., 2010). Účinnost výše zmíněného procesu však může být významně redukována působením některých látek, například antihistaminik, antidepressiv, ale také alkoholem (ten Brink a kol., 1990). Z tohoto důvodu je důležité sledovat obsah BA zejména u alkoholických nápojů, kterých v případě piva může člověk vypít i několik litrů denně.

Limity pro obsah biogenních aminů v pivech nejsou evropskou ani českou legislativou dány. Literatura v případě alkoholických nápojů odkazuje na poměrně nízké bezpečné limity (ve srovnání s jinými potravinami, resp. nápoji neobsahujícími alkohol) pro histamin ($8\text{--}20\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$), tyramin ($25\text{--}40\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) a fenyletylamin ($2\text{--}3\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$).

Z výše uvedených důvodů bylo cílem práce analyzovat obsah biogenních aminů v pivech vyrobených na území České republiky v tzv. minipivovarech.

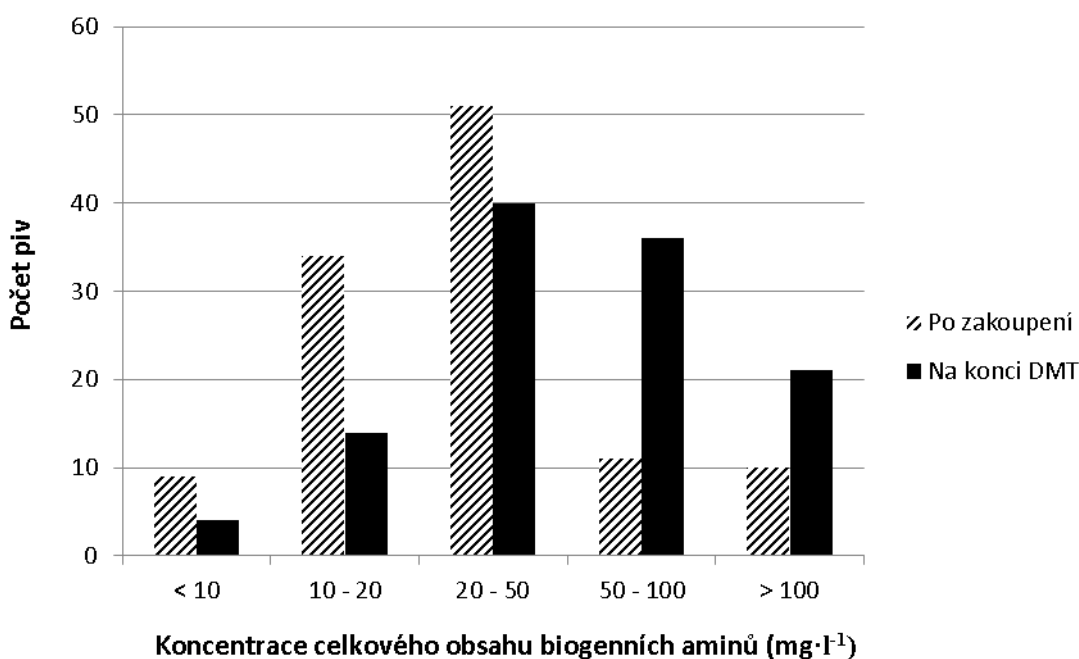
Materiál a metodika

V průběhu let 2016 a 2017 bylo z maloobchodního prodeje (obvykle speciální prodejny nebo přímo v minipivovarech) zakoupeno celkem 115 alkoholických piv vyrobených na území České republiky. Piva pocházela z celkem 35 minipivovarů. Odebírána byla lahvová piva ve skleněných nebo plastových obalech. Ze 115 piv bylo 65 ležáků, 38 speciálních piv a 12 výčepních piv. Celkem 89 piv bylo světlých, 12 tmavých, 13 polotmavých a 1 řezané pivo. Třicet devět piv bylo nepasterovaných a 23 piv nebylo filtrovaných (jednalo se ve většině případů právě o nepasterovaná piva). Deklarovaný obsah alkoholu se pohyboval v rozmezí 4 – 8 % (v/v) Získány byly vždy 4 ks piva, kdy dvě lahve/balení byly analyzovány bezprostředně po zakoupení. Dvě lahve/balení byly skladovány při $22 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ do konce doby minimální trvanlivosti a následně znovu podrobeny stanovení obsahu biogenních aminů. Doba skladování se u jednotlivých piv pohybovala v rozmezí 24 – 157 dnů. Před analýzou BA bylo také změřeno pH vzorků (pH-metr, Eutech Instruments, Oakton, Malajsie).

Po změření pH byly vzorky 30 minut třepány při laboratorní teplotě pro odstranění oxidu uhličitého. Následně byla piva zředěna 1:1 (v/v) kyselinou chloristou ($c = 0,6\text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$). Obsah osmi aminů (histamin, tyramin, fenyletylamin, tryptamin, putrescin, kadaverin, spermidin a spermin) byl stanoven metodou kapalinové chromatografie (LabAlliance, State College, USA; Agilent Technologies, Agilent, Palo Alto, USA) po předchozí derivatizaci dansylchloridem. Derivatizace, chromatografická separace (ZORBAX Eclipse Plus C18, 50 x 3,0 mm, 1,8 μm , Agilent Technologies) a detekce (spektrofotometricky $\lambda = 254\text{ nm}$) byla provedena podle Dadákové a kol. (2009). Každý vzorek byl analyzován ze dvou paralelních lahví, vzorek z dané lahve byl derivatizován třikrát a každá derivatizovaná směs třikrát nanesena na kolonu ($n = 18$). Meze detekce se pro jednotlivé aminy pohybovaly v rozmezí $0,24\text{--}1,39\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Výsledky byly vyhodnoceny Kruskal-Wallisovým a Wilcoxonovým testem a závislosti Spearmanovým korelačním koeficientem.

Výsledky a diskuze

Po zakoupení vzorků byl identifikován celkový obsah biogenních aminů (COBA) pod $10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ pouze u 9 piv (Obrázek 1). Třicet čtyři piv obsahovalo COBA v rozmezí $10 - 20 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, 51 vzorků v intervalu $20 - 50 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, 11 piv v rozmezí $50 - 100 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Zbylých 10 vzorků mělo obsah biogenních aminů nad $100 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, přičemž jedno pivo dosáhlo až hodnoty $167,8 \pm 8,5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (nefiltrovaný pasterovaný světlý ležák s deklarovaným obsahem alkoholu 5,3 % v/v). Na konci doby minimální trvanlivosti byl zjištěn COBA pod $10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ jen u 4 piv, v intervalu $10 - 20 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ se nacházelo 14 vzorků. Čtyřicet piv obsahovalo COBA v intervalu $20 - 50 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, 36 piv v rozmezí $50 - 100 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Zbylých 21 vzorků mělo obsah biogenních aminů nad $100 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, přičemž jedno pivo dosáhlo až hodnoty $289,3 \pm 12,2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (pasterovaný tmavý ležák). U naprosté většiny analyzovaných vzorků došlo k signifikantnímu nárůstu COBA ($P < 0,05$). V několika případech bylo zvýšení obsahu i několikanásobné. Pouze v případě 7 vzorků nebyl nárůst statisticky významný ($P \geq 0,05$). Tyramin byl na konci doby minimální trvanlivosti (byť v nízkých koncentracích) detekován ve všech vzorcích. V téměř 80 % vzorků byl zaznamenán také kadaverin, putrescin, spermin a spermidin. Histamin byl zjištěn v necelých 30 % piv a tryptamin s fenylalaninem byl na konci doby minimální trvanlivosti identifikován a kvantifikován v necelých 5 % piv z minipivovarů. Podle Kalače & Křížka (2003) a Buňky a kol. (2012) má na produkci biogenních aminů vliv výběr surovin, správná výrobní a hygienická praxe, volba kultur a podmínky (délka a teplota skladování). Zásadní je však přítomnost dekarboxylázová aktivita kontaminující mikroorganismů, z nichž podstatnou složkou jsou některé bakterie mléčného kvašení.



Obrázek 1: Celkový obsah biogenních aminů ve vzorcích piv z minipivovarů na území České republiky po jejich zakoupení a na konci doby minimální trvanlivosti (DMT)

Hodnoty pH se na po zakoupení vzorků pohybovaly v rozmezí 4,0 – 5,6 u ležáků, 3,8 – 5,4 u speciálů a 4,2 – 6,4 u výčepních piv. Korelace mezi hodnotou pH a obsahem

jednotlivých BA i COBA však zaznamenána nebyla ($P \geq 0,05$), stejně jako signifikantní závislost mezi obsahem COBA a deklarovaným obsahem alkoholu. Rovněž byly srovnávány hodnoty jednotlivých BA a COBA mezi ležáky, speciály a výčepními pivy a také mezi tmavými, světlými, polotmavými a řezanými pivy, ale žádná signifikantní závislost zjištěna nebyla ($P \geq 0,05$). Potvrdily se tedy závěry studie Buňka a kol. (2012), která byla provedena s pivy vyráběnými ve středních a velkých pivovarech. Neprokázání závislosti na surovinách, obsahu alkoholu ani hodnotě pH ukazuje na nutnost hledat hlavní příčinu zvýšeného obsahu biogenních aminů v dodržování podmínek správné výrobní a hygienické praxe a aktuálním mikrobiologickém obrazu (zejména přítomnosti kontaminantů) vzorků piv.

Závěr

Studie prokázala, že obsah biogenních aminů v pivech vyráběných v minipivovarech může být vysoký. Na konci doby minimální trvanlivosti 57 piv obsahovalo koncentraci biogenních aminů vyšší jak $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, která zejména u alkoholických nápojů již způsobovat zdravotní problémy u citlivých jedinců. Při vyšší konzumaci piva však už mohou výše uvedené koncentrace vést k zdravotním problémům i u zdravých jedinců. Lze tedy doporučit i nadále se věnovat této problematice.

Literatura

- Buňka, F., Budinský, P., Čechová, M., Drienovský, V., Pachlová, V., Matoulková, D., Kubáň, V., Buňková, L. Content of biogenic amines and polyamines in beers from the Czech Republic. *Journal of the Institute of Brewing*, 2012, 118, 2, 213–216.
- Dadáková, E., Křížek, P., Pelikánová, T. Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). *Food Chemistry*, 2009, 116, 365–370.
- Halász, A. et al. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science and Technology*, 1994, 51, 42–49.
- Kalač, P., Křížek, M. A Review of Biogenic Amines and Polyamines in Beer. *Journal of the Institute of Brewing*. 2003, 109, 123–128.
- Spano, G. et al. Biogenic amines in fermented foods. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2010, 64, 95–100.
- ten Brink, B. et al. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 1990, 11, 73–84.
- Česká republika. Vyhláška č. 335/1997 Sb. ze dne 31. prosince 1997, kterou se provádí §18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro nealkoholické nápoje a koncentráty k přípravě nealkoholických nápojů, ovocná vína, ostatní vína a medovinu, pivo, konzumní líh, lihoviny a ostatní alkoholické nápoje, kvasný ocet a droždí. In *Sbírka zákonů*, 1997, 111, 6834–6854.

Poděkování

Tato práce byla podpořena Grantovou agenturou České republiky – projektem číslo 17-09594S.

Kontaktní adresa

prof. Ing. František Buňka, Ph.D., UTB ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav technologie potravin, nám. T. G. Masaryka 5555, 760 01 Zlín, e-mail: bunka@utb.cz

Vliv teploty na růst *Cronobacter* spp. v kojeneckém mléce

Effect of temperature on the growth of Cronobacter spp. in infant milk

Bursová, Š.¹, Haruštiaková, D.², Necidová, L.¹

¹Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

²Masarykova univerzita, Brno

Souhrn

Studie byla zaměřena na využití různých primárních růstových modelů při hodnocení růstu *Cronobacter sakazakii* v počátečním kojeneckém mléce při teplotě 8, 15, 21 a 30 °C. Počet *C. sakazakii* byl stanoven plotnovou metodou na ESIA agaru (44 °C, 24 h). Bakterie se v obnoveném mléce množila pouze při teplotách vyšších než 8 °C. Buchananův model nejlépe charakterizoval růst *C. sakazakii* při teplotách 15 a 21 °C; při 30 °C charakterizuje růst bakterie nejlépe Gompertzův model. Pro zajištění bezpečnosti není vhodné kojenecké mléko po obnovení uchovávat při teplotách vyšších než 8 °C.

Abstract

The study was focused on the use of different primary growth models in assessing of *Cronobacter sakazakii* growth in infant milk at 8, 15, 21 and 30 °C. Count of *C. sakazakii* was determined by a plate method on ESIA agar (44 °C, 24 h). Bacteria grew in reconstituted milk only at temperatures above 8 °C. The Buchanan model best characterized the growth of *C. sakazakii* at temperatures of 15 and 21 °C; at 30 °C the growth of the bacterium is best characterized by the Gompertz model. To ensure the safety there is not appropriate to store infant milk after reconstitution at temperatures higher than 8 °C.

Klíčová slova: *Baranyiho model, Gompertzův model, Buchananův model, rychlost růstu*

Úvod

Cronobacter sakazakii, dříve *Enterobacter sakazakii*, je rovná nesporeující gramnegativní tyčinka z čeledi *Enterobacteriaceae* (Norberg et al., 2012). *C. sakazakii* je označován jako oportunní patogen, onemocnění postihuje převážně novorozence a imunodeficientní jedince, má často závažný průběh (nekrotizující enterokolitida, meningitida, sepse) s výjimečně vysokou úmrtností dosahující až 80 %. Ve většině doložených případů bylo onemocnění spojeno s konzumací sušené kojenecké výživy (Demnerová et al., 2016).

V prediktivní mikrobiologii je v současnosti naprosto zásadní použití matematických modelů popisujících růst mikroorganismů. Jde nejenom o tzv. primární modely, které pomocí matematických rovnic vyjadřují vztah počtu mikroorganismů (většinou log KTJ.ml⁻¹ nebo log KTJ.g⁻¹) a času (hodiny nebo dny), ale také o sekundární modely, které sledují vztah mezi parametry primárních modelů (délka lag fáze, rychlost růstu) a podmínkami vnějšího prostředí (teplota, pH, aktivita vody).

K popisu růstu mikroorganismů bylo vyvinuto několik primárních modelů, z nich nejčastěji používanými jsou Baranyiho model (Baranyi and Roberts, 1994), Gompertzův model (Gibson et al., 1988; Zwietering et al., 1990) a Buchananův třífázový lineární model (Buchanan, 1997).

Cílem naší práce bylo pomocí tří matematických modelů popsat růst bakterie *Cronobacter sakazakii* v obnoveném kojeneckém mléce při různých teplotách skladování a tyto tři modely vhodně porovnat. Dalším cílem bylo vyhodnotit vliv teploty na rychlost růstu *C. sakazakii*.

Materiál a metodika

K zaočkování sušeného kojeneckého mléka (Sunar® complex 1, Hero, Lenzburg, Švýcarsko) byla použita směs tří sbírkových kmenů (poměr 1:1:1), a to *C. sakazakii* CCM 1902 (Česká sbírka mikroorganismů, Brno, ČR), *C. sakazakii* 372 – izolát z okurky, serotyp O:4; a *C. sakazakii* 484 – izolát z mrkve, serotyp O:2 (oba kmeny Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno, ČR).

Kojenecké mléko bylo obnoveno dle pokynů výrobce a zaočkováno připravenou suspenzí sbírkových kmenů tak, aby bylo dosaženo výchozí koncentrace řádově 10^2 KTJ.ml⁻¹. Takto byly pro každou sledovanou teplotu připraveny 3 paralelní vzorky + kontrola (nezaočkované mléko). Vzorky mléka byly uchovávány 96 h při teplotě 8, 15, 21 a 30 °C.

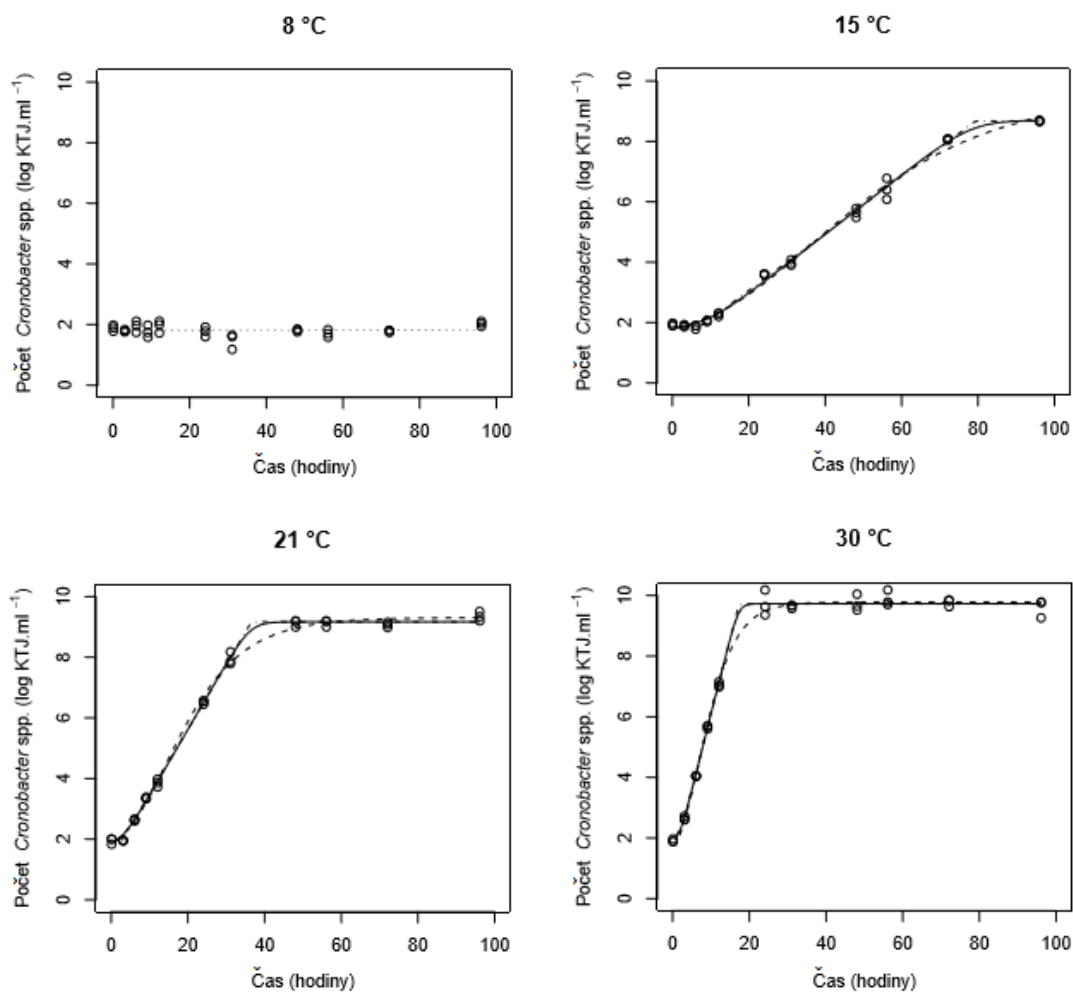
Odběr vzorků pro stanovení počtu *C. sakazakii* v zaočkovaném i kontrolním mléce byl proveden po 0 (výchozí počet), 3, 6, 9, 12, 24, 31, 48, 56, 72 a 96 hodinách skladování. Stanovení počtu (KTJ.ml⁻¹) bylo provedeno roztěrem 0,2 ml příslušného ředění vzorku na povrch ESIA agaru (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Indie), inkubace aerobně při teplotě 44 °C po dobu 24 h. Získaná data byla logaritmičticky transformována za použití dekadického logaritmu. Tyto hodnoty byly následně použity pro vytvoření růstových modelů.

K popisu růstu bakterií *C. sakazakii* byly použity tři primární modely: Baranyiho model (Baranyi and Roberts, 1994), Gompertzův model (Gibson et al., 1988; Zwietering et al., 1990) a třífázový Buchananův model (Buchanan, 1997). K porovnání jednotlivých modelů byla použita hodnota reziduální standardní chyby (RSE) a korelace mezi pozorovanými a modelem predikovanými hodnotami.

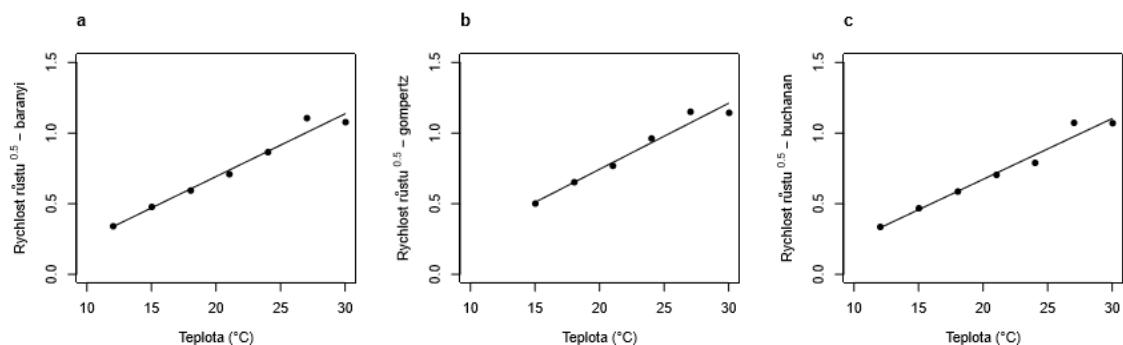
Vliv teploty skladování na rychlost růstu byl vyhodnocen pomocí sekundárního Ratkowského modelu, který sleduje lineární vztah mezi odmocninou rychlosti růstu a teplotou podle vzorce: $\sqrt{\mu_{max}} = a * (T - T_{min})$, kde μ_{max} je rychlost růstu a T je teplota (Ratkowsky et al., 1982). K modelování vztahů byl použit software R, verze 3.4.3 a knihovna nlsMicrobio.

Výsledky a diskuze

Vytvořené růstové křivky *C. sakazakii* pro jednotlivé skladovací teploty jsou uvedeny na obrázku 1. Při teplotě 8 °C nebyl během 96 hodin skladování zaznamenán růst *C. sakazakii*. Lze předpokládat, že bakteriální populace setrvala po celou dobu v lag-fázi růstu. U vyšších teplot byla vytvořená růstová křivka kompletní. Pro teploty 15 a 21 °C byl jako nejvhodnější vyhodnocen třífázový Buchananův model (nejnižší hodnota RSE a vysoká hodnota R² – data nejsou uvedena). Při teplotě 30 °C charakterizuje růst bakterie nejlépe Gompertzův model, rozdíly RSE mezi jednotlivými modely jsou však minimální. Také Fang et al. (2012) sledovali růst *C. sakazakii* v obnoveném kojeneckém mléce a uvádějí jako nejvhodnější logistický model (Fang et al., 2012).



Obrázek 1: Pozorované (body) a predikované hodnoty (křivky) počtu *C. sakazakii* v obnoveném kojeneckém mléce při různých teplotách skladování. Teplota 8 °C - lineární model, teplota 15, 21 a 30 °C – Baranyiho model (—), Gompertzův model (---), Buchananův model (-.-)



Obrázek 2: Vliv teploty na rychlost růstu *C. sakazakii* podle Ratkowského modelu; a) rychlost růstu určena Baranyiho primárním modelem, b) rychlost růstu určena Gompertzovým primárním modelem, c) rychlost růstu určena Buchananovým primárním modelem. Pozn. Pro výpočet sekundárního modelu byly použity i modely růstu při dalších teplotách, ne pouze těch vedených v obrázku 1

Tabulka 1: Vliv teploty na rychlost růstu *Cronobacter sakazakii* v kojeneckém mléce. Parametry sekundárního Ratkowského modelu. RSE – reziduální standardní chyba, R^2 – druhá mocnina korelace pozorovaných hodnot a hodnot predikovaných modelem

<i>Ratkowského model pro vztah rychlosti růstu μ_{max} a teploty T</i>						
Parametr	Odhad	St. chyba	t hodnota	P	RSE	R^2
<i>Rychlost růstu μ_{max} určena primárním Baranyiho modelem</i>					0,0545	0,971
a	0,044	0,003	12,954	<0,001		
Tmin	4,432	1,360	3,258	0,023		
<i>Rychlost růstu μ_{max} určena primárním Gompertzovým modelem</i>					0,0557	0,965
a	0,047	0,004	10,535	<0,001		
Tmin	4,094	1,813	2,258	0,087		
<i>Rychlost růstu μ_{max} určena primárním Buchananovým modelem</i>					0,0540	0,970
a	0,043	0,003	12,654	<0,001		
Tmin	4,372	1,397	3,129	0,026		

Rychlost růstu byla ovlivněna teplotou, tento vztah byl vyjádřen pomocí Ratkowského sekundárního modelu. S narůstající teplotou skladování se zvyšovala také rychlost růstu (obrázek 2, tabulka 1). Sekundární model byl aplikován na rychlost růstu určenou postupně všemi třemi primárními modely. Výsledky jsou ovšem zcela konsistentní, jak je zjevné z odhadů parametrů všech modelů. Na základě našich výsledků je odhad minimální teploty pro růst *C. sakazakii* 4 °C. Fang et al. (2012) modelovali vztah mezi růstem a teplotou pomocí tří různých sekundárních modelů (modifikovaný Ratkowského, modifikovaný Huangův a kardinální model) a zdůrazňují výhody Huangova modelu, kterého odhady minimální a maximální teploty pro růst *C. sakazakii* byly nejvíc realistické; jako minimální teplotu uvádějí 6,5 °C. V případě našich dat nebyl ovšem tento model použitelný kvůli krátkému gradientu sledovaných teplot. Lze konstatovat, že náš odhad minimální teploty růstu pomocí Ratkowského modelu není zcela přesný.

Závěr

Znalost dynamiky růstu patogenních bakterií a její závislost od teploty skladování má nepostradatelný význam pro hodnocení zdravotní nezávadnosti potravin. Z hlediska bezpečnosti by mělo být obnovené mléko co nejrychleji zkonsumováno, případně krátkodobě uchováno při teplotách do 8 °C.

Literatura

Seznam literárních zdrojů je k dispozici u autorů nebo na posteru prezentovaném na konferenci.

Poděkování

Tato práce byla finančně podpořena Interní grantovou agenturou VFU Brno, projekt č. 209/2018/FVHE.

Kontaktní adresa

MVDr. Šárka Bursová, Ph.D., VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie mléka, Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno, e-mail: bursovas@vfu.cz

Hodnocení textury ve vybraných džemech obohacených vlákninou *Evaluation of texture in selected fibre fortified jams*

Cápíková, J., Jančíková, S., Dordevic, D.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Cílem práce je zkoumání vybraných džemů obohacené vlákninou. Práce se zaměřuje na texturní parametry džemů a zkoumá, jak byly tyto parametry ovlivněny po přidávku vlákniny. Zahrnuje také zkoumání přidávku vlákniny spolu s pektinem. Materiálem byl meruňkový a rybízový džem. Oba džemy byly zhotoveny na Ústavu vegetabilních potravin a rostlinné produkce VFU v Brně. Do džemů byla přidávána bambusová vláknina v koncentracích 1 %, 5 % a 10 %. Bylo provedeno hodnocení texturních parametrů: pevnost, konzistence, soudržnost a index viskozity. Vzorky obsahující 2 % pektinu byly považovány za standardy, protože takové složení džemů je nejčastější. Při srovnání těchto vzorků se vzorky obsahující 1 % vlákniny byl zjištěn téměř ve všech případech statisticky nevýznamný rozdíl. Vláknina by se tedy mohla stát významnou složkou džemů a zvyšovat jeho nutriční hodnotu. Texturní parametry byly ovlivněny také druhem použitého ovoce.

Klíčová slova: *textura, meruňka, červený rybíz, vláknina*

Abstract

The aim of the work was to evaluate textural parameters of fiber fortified fruit jams. The main emphasis in the work was put on overview of interference between rheological/textural parameters and fiber addition with gelling forming agent. The used research material was apricot and red currant jams. The jams were produced at the Department of Technology and Hygiene of plant foodstuffs (VFU Brno, Czech Republic). Bamboo fibers were added to produced jams in different concentrations (1 %, 5 % and 10 %). Following textural parameters were monitored: firmness, consistency, cohesiveness and viscosity index. Samples containing 2 % of pectin, without fiber addition, served as control samples. The research revealed that analyzed jams with 1 % fiber addition did not differ significantly ($p < 0.05$) with control sample, according to measured textural properties. The gained results are emphasizing the possibility of fruit jams fortification with bamboo fiber addition.

Keywords: *texture, apricot, red currant, fiber*

Úvod

Vláknina je nezbytnou součástí zdravé výživy a příznivě působí na zdraví člověka. I když se vláknina nepovažuje za živinu, zdravotníci a odborníci na výživu se shodují, že je potřebná pro zajištění správného fungování gastrointestinálního traktu. Vláknina je odolná vůči trávení a absorpci v tenkém střevě člověka. V tlustém střevě dochází k její úplné nebo částečné fermentaci. Dále snižuje LDL-cholesterol a zlepšuje laxaci. I přes její příznivé účinky na zdraví se setkáváme s nedostatečným množstvím vlákniny v lidské stravě (Guo, 2009). Nízká spotřeba vlákniny je spojena s vyšším výskytem chronických onemocnění, včetně rakoviny, kardiovaskulárních onemocnění, obezity nebo diabetes typu 2 (Cassidy et al., 2018). Vláknina v potravinářském průmyslu hraje

nezastupitelnou roli a považuje se za funkční složku/potravinu pro její příznivé účinky na lidské zdraví (Guo, 2009).

V této práci byla použita bambusová vláknina. Existují dva způsoby zpracování této vlákniny: mechanické a chemické. Chemické zpracování zahrnuje počáteční alkalickou hydrolyzu pomocí NaOH a na ni navazuje vícefázové bělení. Většina výrobců používá tento proces, neboť je méně časově náročný. Naproti tomu při mechanickém způsobu dochází ke tvorbě houbovité hmoty pomocí enzymů. Tento proces je oproti chemickému způsobu zpracování šetrnější k životnímu prostředí (Abdul Khalil et al., 2012).

Bambusová vláknina je tvořena zejména celulórou (73,83 %), hemicelulózou (12,49 %), ligninem (10,15), pektinem (0,37 %) a poslední složku tvoří vodný výluh (3,16 %). Dalšími složkami jsou bílkoviny, tuky, pektin, třísloviny, pigmenty a popel. Necelulórové složky ovlivňují pevnost, pružnost, vlhkost a rovnoměrnost vláken. Jednosměrné uspořádání bambusových vláken v tkáních a struktuře buněčných stěn bambusu je jedinečnou vlastností bambusu (Abdul Khalil et al., 2012). Energetická hodnota vlákniny činí 4 kcal/15 kJ na 100 g. Podle světové zdravotnické organizace je doporučený denní příjem vlákniny u dospělých 25 g. (EFSA, 2010). Vláknina v potravinách mění jejich konzistenci, texturu, reologické chování a smyslové vlastnosti. Vznik nových zdrojů vlákniny nabízí nové možnosti využití v potravinářském průmyslu. Dietní vláknina je vhodný přírůstek do funkčních potravin, kvůli jejím příznivým účinkům na zdraví viz výše. Mezi nejčastější potraviny obohacené o vlákninu patří snídaně cereálie, pekařské výrobky, mléko, výrobky z masa nebo těstoviny (Dhingra et al., 2012).

Práce má za cíl zkoumání vlivu přírůstku vlákniny do ovocného džemu z důvodu zvýšení obsahu vlákniny. Zároveň výzkum ukazuje možnost náhrady pektinu za bambusovou vlákninu kvůli nezměněným texturním a reologickým vlastnostem.

Materiál a metodika

Materiálem byly dva druhy ovoce. Meruňka velkopavlovická (*Prunus magnapavliciana*) pochází z jižní Moravy z Kostelce u Kyjova. Červený rybíz (*Ribes rubrum* 'Detvan') byl vypěstován ve vesnici Rymice nacházející se poblíž města Zlína. Zhotovení vzorků jsme provedli na Ústavu hygieny a technologie potravin rostlinného původu na Veterinární a farmaceutické univerzitě v Brně. Ovoce jsme omyli a očistili. Následně jsme plody zbavili pecek, popř. zrníček. Dále jsme odvážili 400 g příslušného ovoce a začali jsme jej vařit. Od doby varu jsme stopovali 3 minuty a poté jsme přidali příslušné suroviny jako byl cukr (cukr krystal, výrobce: Korunní, Česká republika), pektin (výrobce: Grešík, Česká republika), vláknina (výrobce: Natura Food Additives, a.s., Česká republika) viz tabulka 1. Poté jsme vzniklou směs vařili 2-3 minuty a po uplynutí této doby jsme džem plnili do uzavíratelných skleněných nádob, které byly uchovávány v chladničkových teplotách ($+4 \pm 2$ °C). Před prováděnou analýzou byly hodinu ponechávány při pokojové teplotě. Texturní analýza byla provedena pomocí přístroje TA.XT.PLUS Texture Analyser (Stable Micro Systems, Godalming, UK). Pro určování texturních parametrů byl použit software Exponent Stable Micro System (verze 6, 1, 11, 0, UK).

Statistická analýza byla provedena pomocí programu SPSS (verze 23.0, SPSS, Chicago, IL, USA). Výsledky byly zpracovány užitím one-way analýzy (ANOVA). Celkové rozdíly mezi jednotlivými vzorky džemu byly zjištěny prostřednictvím analýzy hlavních komponent (PCA).

Tabulka 1: Složení jednotlivých druhů džemů

vzorek č.	ovoce	cukr	pektin	vláknina
1	400 g	320 g	-	-
2			2 %	-
3			-	1 %
4			-	5 %
5			-	10 %
6			2 %	1 %
7			2 %	5 %
8			2 %	10 %

**Obrázek 1:** Postup výroby vzorků džemu

Výsledky a diskuze

S přidavkem vlákniny korelují hodnoty pevnosti, konzistence soudržnosti, kohezivity i indexu viskozity. Džemy s přidavkem vlákniny i pektinu vykazovaly vyšší hodnoty než džemy obsahující pouze vlákninu, a to u všech hodnocených texturních parametrů. Nejvyšší hodnoty pevnosti byly zjištěny u vzorku č. 8, který obsahuje 10 % vlákniny a 2 % pektinu, a to u obou druhů džemu (meruňka: $928,16 \pm 238,75$ g, rybíz: $1777,23 \pm 139,01$ g). Je známo, že přidavek vlákniny do potravin souvisí se zvýšením tuhosti (Hashim et al., 2009; Abdul Khalil et al., 2012). Texturní vlastnosti spolu s chutí představují nejdůležitější faktory při nákupu potravin. Bylo zjištěno, že při nákupu potravin je spotřebitel více ovlivňován senzorickými parametry (struktura, chuť, vzhled) než nutriční hodnotou produktu a potenciálním přínosem pro zdraví (Grigor et al., 2016). Vláknina ovlivňuje reologické vlastnosti potravin zejména jejich viskozitu (Guo, 2009; Cassidy et al., 2018). Podle smyslové analýzy byly pozitivně hodnoceny potraviny obohacené o bambusovou vlákninu. Jednalo se o jogurty, které obsahovaly 1 % přidané vlákniny (Staffolo et al., 2004; Dhingra et al., 2012).

V porovnání mezi oběma druhy džemů vykazoval meruňkový džem nižší texturní hodnoty než džem z červeného rybízu, důvodem může být vyšší množství pektinu, který se přirozeně v ovoci vyskytuje. Červený rybíz je známý svým vysokým podílem pektinu. Meruňky obsahují 1,02 % pektinu (Baker, 1997).

Vzorek č. 2 jsme považovali za standard, neboť se vyráběl podle tradiční receptury z obvyklých složek, tj. ovoce, cukr a pektin. Při srovnání tohoto vzorku se vzorkem obsahující pouze ovoce a cukr (vzorku. č. 1) byly pozorovány u rybízového džemu

statisticky nevýznamné rozdíly ($p > 0,05$), u meruňkového byl sledován statisticky nevýznamný rozdíl ($p > 0,05$) u parametrů konzistence a index viskozity.

U vzorků meruňkového džemu, kde byla přidána pouze vláknina, byl zaznamenán statisticky nevýznamný rozdíl ($p > 0,05$) u vzorku č. 5, a to u všech zkoumaných parametrů. Při pohledu na vzorky obsahující spolu s vlákninou i pektin byl pozorován nevýznamný rozdíl u vzorku č. 6, a to u všech texturních parametrů.

U vzorků vyrobených z červeného rybízu, které obsahovaly pouze vlákninu byl ve srovnání se standardem zjištěn nevýznamný rozdíl u vzorku č. 4 (5 % vlákniny) u všech texturních parametrů. Když se zaměříme na rybízové vzorky obsahující vlákninu i pektin pozorujeme statisticky nevýznamné rozdíly u všech parametrů u vzorku č. 6 (5 % vlákniny, 2 % pektinu) a u vzorku č. 7 obsahující 10 % vlákniny a 2 % pektinu. Samozřejmě, že přidávání vlákniny do džemů může vest ke změně přijatelnosti produktu u spotřebitelů, ale mnohokrát bylo potvrzeno, že po obohacení produktu vlákninou došlo k většímu zájmu u spotřebitelů o tyto produkty (Hashim et al., 2009). I přesto, že bambusová vláknina je inertní, nekalorický, bílý prášek bez chuti a bez zápachu, výzkum ukazuje, že obohacení ovocných džemů touto vlákninou má vliv na jejich texturní parametry (Kucerova et al., 2013). PCA analýza (graf 1) rozdělila vzorky do 4 skupin, u kterých vidíme, jak moc vláknina ovlivňuje texturní parametry. Tato analýza nám ukazuje, že texturní vlastnosti džemů jsou ovlivněné druhem použitého ovoce; vzorky do kterých bylo přidáno největší množství vlákniny (R8 a M8) se významně liší. Většina vzorků meruňkového a rybízového džemu byly v oddělených skupinkách.

Tabulka 2: Texturní vlastnosti meruňkového džemu (pevnost, konzistence, soudržnost, viskozita) v závislosti na množství použitého pektinu a vlákniny

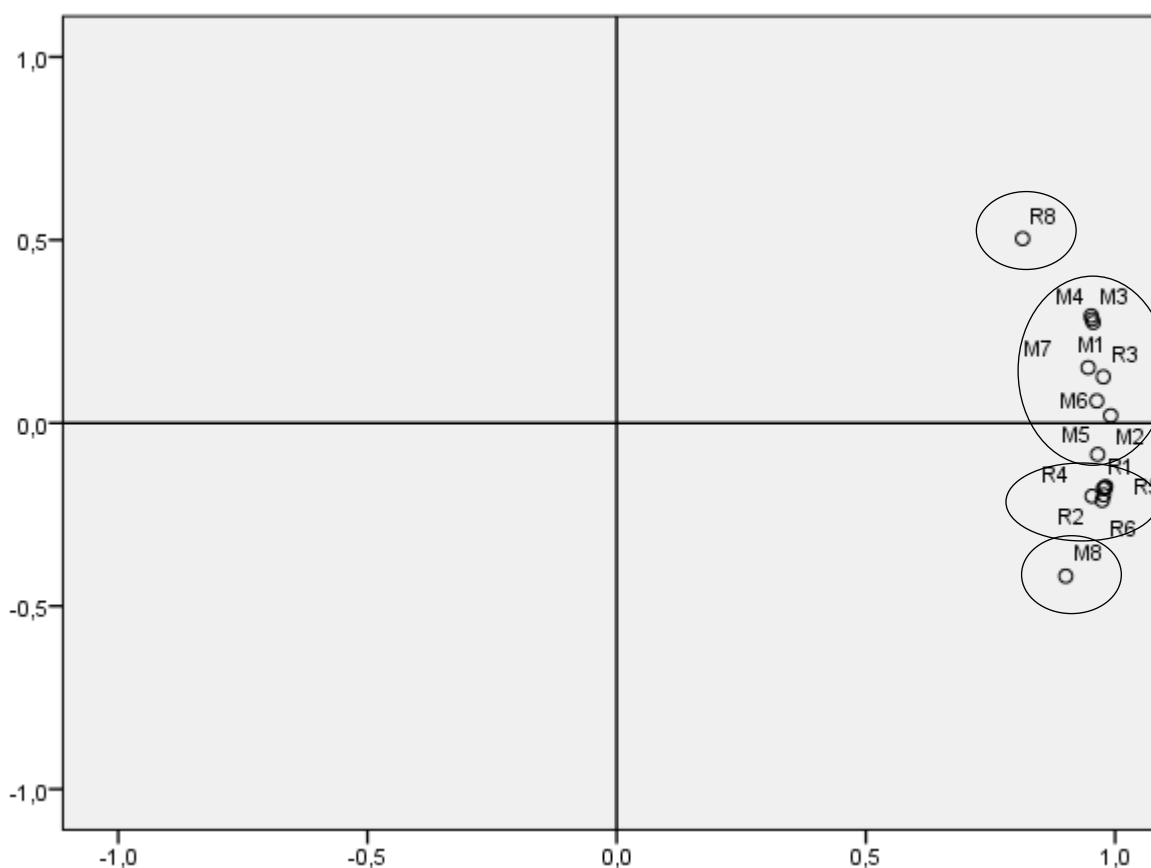
vz č.	pevnost [g]	konzistence [g/s]	soudržnost [g]	index viskozity [g/s]
1	38,71 ± 2,93 ^a	840,73 ± 123,92 ^a	-23,2 ± 1,91 ^a	-317,35 ± 46,79 ^a
2	147,63 ± 25,63 ^{bd}	2995,83 ± 1256,99	-80,72 ± 11,04 ^b	-1681,09 ± 460,43
3	68,57 ± 5,23 ^d	1518,34 ± 166,1 ^b	-32,56 ± 1,85 ^d	-902,57 ± 62,4 ^b
4	263,64 ± 16,19 ^c	4587,74 ± 408,21 ^c	-136,21 ± 6,23 ^c	-2427,11 ± 310,44 ^c
5	813,35 ± 258,19	8961,92 ± 5742,12	-458,59 ± 118,16 ^{bcd}	-4289,77 ± 2114,93
6	160,15 ± 25,73 ^b	3332,6 ± 1354,03	-97,24 ± 14,91 ^{be}	-2164,98 ± 639,04
7	454,09 ± 82,69 ^{ce}	7078,63 ± 2510,97	-285,98 ± 27,97 ^c	-4539,23 ± 1172,28
8	928,16 ± 238,75 ^e	13521,76 ± 10373,72	-603,61 ± 257,64 ^{bec}	-4039,47 ± 2217,1

*malá písmena v horním indexu označují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) mezi řádky

Tabulka 3: Texturní vlastnosti rybízového džemu (pevnost, konzistence, soudržnost, viskozita) v závislosti na množství použitého pektinu a vlákniny

vz č.	pevnost [g]	konzistence [g/s]	soudržnost [g]	index viskozity [g/s]
1	321,44 ± 125,75 ^a	6222,55 ± 3901,37 ^a	-141,56 ± 1,19 ^a	-1827,14 ± 371,17 ^a
2	499,26 ± 177,39 ^a	7809,92 ± 4827,76 ^a	-94,09 ± 34,81 ^{ab}	-1509,08 ± 985,05 ^a
3	494,46 ± 61,03 ^a	6583,25 ± 1549,22 ^a	-80,39 ± 9,52 ^b	-1184,57 ± 384,55 ^c
4	562,21 ± 109,33 ^a	9225,92 ± 5983,75	-236,37 ± 64,73	-3577,63 ± 1929,09 ^a
5	1218,1 ± 276,51 ^b	15086,43 ± 9380,99	-544,44 ± 168,12	-4761,72 ± 1228,15 ^{ab}
6	592,34 ± 90,87 ^a	8940,72 ± 5034,63	-132,63 ± 23,79 ^{ab}	-2073,79 ± 684,35 ^a
7	705,17 ± 159,12 ^a	11420,58 ± 7642,58	-300,99 ± 79,17	-4356,62 ± 1956,72
8	1777,23 ± 139,01 ^c	26818,29 ± 10586,69 ^b	-668,31 ± 137,58 ^c	-7712,42 ± 1398,83 ^b

*malá písmena v horním indexu označují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) mezi řádky



Graf 1: Analýza hlavních komponent (PCA) ovocných džemů (meruňka a červený rybíz) – texturní parametry

Vysvětlivky:

M1 – bez vlákniny a pektinu, M2 – 2 % pektinu, M3 – 1 % vlákniny, M4 – 5 % vlákniny, M5 – 10 % vlákniny, M6 – 1 % vlákniny a 2 % pektinu, M7 – 5 % vlákniny a 2 % pektinu, M8 – 10 % vlákniny a 2 % pektinu, R1 – bez vlákniny a pektinu, R2 – 2 % pektinu, R3 – 1 % vlákniny, R4 – 5 % vlákniny, R5 – 10 % vlákniny, R6 – 1 % vlákniny a 2 % pektinu, R7 – 5 % vlákniny a 2 % pektinu, R8 – 10 % vlákniny a 2 % pektinu

Závěr

Práce ukázala, že džemy obsahující 1 % vlákniny mají velmi podobnou texturu se vzorky obsahující pouze pektin, tj. se vzorky, které se nejčastěji vyskytují v tržní síti. Tato skutečnost byla zjištěna u obou druhů ovoce. Z toho vyplývá, že by džemy obohacené vlákninou mohly tradiční džemy, jak je známe, nahradit. Vzhledem k tomu, že přidaná vláknina zlepšuje texturu a považuje se za funkční složku potravin by se tyto džemy mohly stát více funkční potravinou z nutričního hlediska. Džemy s více než 1 % vlákniny by mohly být také akceptovány ze strany konzumenta, kdyby byl informován o příznivém účinku na jejich zdraví.

Literatura

Abdul Khalil, H.P.S., I.U.H. Bhat, M. Jawaid, A. Zaidon, D. Hermawan A Y.S. Hadi, 2012. Bamboo fibre reinforced biocomposites: A review. *Materials & Design*, **42**, 353-368

- Baker, Robert A., 1997. Reassessment of Some Fruit and Vegetable Pectin Levels. *Journal of Food Science*, **62**(2), 225-229
- Cassidy, Yvonne M., Emeir M. Mccorley a Philip J. Allsopp, 2018. Effect of soluble dietary fibre on postprandial blood glucose response and its potential as a functional food ingredient. *Journal of Functional Foods*, **46**, 423-439
- Dhingra, Devinder, Mona Michael, Hradesh Rajput a R. T. Patil, 2012. Dietary fibre in foods: a review. *Journal of Food Science and Technology*, **49**(3), 255-266
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA), 2010. Scientific opinion on dietary reference values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal*, **8**(3), p.1462
- Grigor, John M., Charles S. Brennan, Scott C. Hutchings a David S. Rowlands, 2016. The sensory acceptance of fibre-enriched cereal foods: a meta-analysis. *International Journal of Food Science & Technology*, **51**(1), 3-13
- Guo, Mingruo, 2009. Dietary Fiber and Dietary Fiber Rich Foods. *Functional Foods* [Online]. Elsevier, 2009, S. 63-111
- Hashim, I.B., A.H. Khalil a H.S. Afifi, 2009. Quality characteristics and consumer acceptance of yogurt fortified with date fiber. *Journal of Dairy Science*, **92**(11), 5403-5407
- Kučerová, J., Šottníková, V. A Nedomová, Š., 2013. Influence of Dietary Fibre Addition on the Rheological and Sensory Properties of Dough and Bakery Products. *Czech Journal of Food Science*, **31**(4), 340-346
- Staffolo, M.Dello, N. Bertola, M. Martino a Y A. Bevilacqua, 2004. Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. *International Dairy Journal*, **14**(3), 263-268

Kontaktní adresa

Bc. Jana Čápíková

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie

Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu

Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno,

e-mail: capikovajana@gmail.com

Sledovanie obsahu voľných mastných kyselín vo vzorkách surového kravského mlieka

Monitoring of free fatty acid content in samples of raw cow's milk

Čanigová, M., Ducková, V., Zajác, P., Remeňová, Z., Tkáčová, J.

Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU v Nitre

Súhrn

Cieľom práce bolo sledovať obsah voľných mastných kyselín (FFA) v surovom kravskom mlieku odoberanom v priebehu mesiacov január až jún v roku 2018. Obsah FFA sa sledoval v cisternových vzorkách mlieka dvoch väčších mliekarní a v bazénových vzorkách dvoch menších družstevných mliekarní. Cisternové vzorky mlieka mali štatisticky preukazne vyšší obsah FFA ako bazénové vzorky ($P < 0,05$). Štatisticky preukazné ($P < 0,05$) boli aj rozdiely v obsahu FFA medzi bazénovými vzorkami mlieka. Najnižší obsah FFA sa zisťoval vo vzorkách mlieka odobraných v mesiaci marec.

Abstract

The aim of this work was to monitor the content of free fatty acids (FFA) in raw cow's milk sampling from January to June 2018. FFA content was monitored in milk tankers of two larger dairies and pool samples of two smaller farm dairies. Milk tank samples had a statistically higher FFA content than pool samples ($P < 0.05$). Statistical differences ($P < 0.05$) in FFA content were also between pool milk samples. The lowest FFA content was detected in milk samples taken in March.

Kľúčové slová: *kravské mlieko, voľné mastné kyseliny*

Úvod

Jednou z hlavných zložiek mlieka je mliečny tuk, ktorý je dominantne (97 – 98 %) tvorený triacylglycerolmi (Liu et al., 2017). Lipolýza, teda enzymatické štiepenie mliečného tuku na glycerol a mastné kyseliny, spôsobuje po prekročení určitej koncentrácie voľných mastných kyselín rôzne chyby chute mlieka a mliečnych výrobkov. Najčastejšie sa uvádzajú chyby ako žklá, lojovitá, kovová, mydlová (Wiking et al., 2017). Samotnú lipolýzu spôsobujú buď natívne lipoprotein-lipázy (pochádzajúce z mlieka, ktoré sa pri tvorbe mlieka podieľajú na syntéze triacylglycerolov) alebo mikrobiálne lipázy (Deeth, 2006).

Mliečny tuk, ktorý tvorí jadro tukových guľôčok je efektívne chránený obalom, ktorý predstavuje bariéru pre lipázy. Avšak v určitých situáciách sa táto ochrana znižuje a dochádza k lipolýze. V prípade spontánnej lipolýzy sa môže uplatniť viacero faktorov ako napr. kvalita a množstvo krmiva, spôsob dojenia, štádium laktácie zvierat a zdravotný stav (Wiking et al., 2003; Deeth, 2006; Wiking et al., 2006). V mlieku mastitídnych kráv ovplyvňujú spontánnu lipolýzu predovšetkým lipázy obsiahnuté v somatických bunkách a lipázy infikujúcich mikroorganizmov (Vidanarachchi et al., 2015). Indukovaná lipolýza je spôsobená mechanickým porušením obalu tukových guľôčok a následným pôsobením lipáz. Podporuje ju najmä mechanické namáhanie mlieka pri dojení, prečerpávaní, doprave, skladovaní v chlade. Z technologických operácií podporujú indukovanú lipolýzu najmä odstreďovanie a homogenizácia mlieka

(Wiking a Dickow, 2013). Mikrobiálnu lipolýzu spôsobujú predovšetkým lipázy psychrotrofných mikroorganizmov.

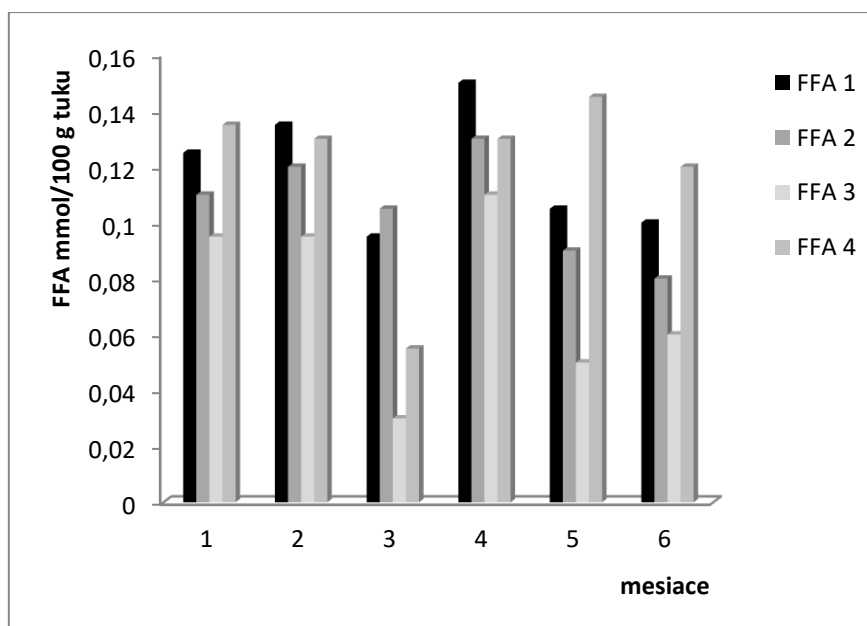
Cieľom tejto práce bolo zistiť obsah voľných mastných kyselín v cisternových a bazénových vzorkách surového kravského mlieka. Štatisticky vyhodnotiť rozdiely v obsahu voľných mastných kyselín medzi vzorkami mlieka odobranými v priemyselných a družstevných mliekárňach.

Materiál a metodika

Vzorky surového kravského mlieka sa odoberali jedenkrát mesačne počas januára až júna 2018. Odoberali sa cisternové vzorky v dvoch priemyselných mliekarenských závodoch a bazénové vzorky v dvoch družstevných mliekárňach. Základná analýza mlieka vrátane stanovenia obsahu voľných mastných kyselín sa robila na prístroji Bentech Dairy Spec (*Bentley, Czech*) do 24 hodín po odbere vzoriek. Získané výsledky sa spracovali v programe Microsoft Excel. K štatistickému vyhodnoteniu sa použil Wilcoxon test.

Výsledky a diskusia

Získané výsledky obsahu voľných mastných kyselín v mlieku sú graficky znázornené na obr. 1.



Obrázok 1: Obsah voľných mastných kyselín v surovom kravskom mlieku
Vysvetlivky: FFA 1 a FFA 4 – obsah kyselín v cisternových vzorkách mlieka
FFA 2 a FFA 3 – obsah kyselín v bazénových vzorkách mlieka

Obsah voľných mastných kyselín stanovený FT IR spektrofotometriou kolísal od 0,03 po 0,145 mmol/100 g tuku. Priemerný obsah voľných mastných kyselín v cisternových vzorkách mliek dosiahol hodnotu 0,125 mmol/100 g tuku a v bazénových vzorkách 0,081 mmol/100 g tuku. Tieto hodnoty sú veľmi nízke a dokazujú, že v mlieku neprebíhala lipolýza do tej miery, aby boli zmenené senzorické vlastnosti mlieka. Wiking et al. (2017) zistili koreláciu medzi obsahom

voľných mastných kyselín stanoveným FT IR metódou, ktorá sa pokladá za nepriamu metódu, a potuchnutou chuťou pri hodnotách voľných mastných kyselín nad 1,2 mmol/100 g tuku. Z práce týchto autorov tiež vyplýva, že limitné hodnoty obsahu voľných mastných kyselín pre určenie zmeny senzorických vlastností mlieka sú odlišné pre rôzne metódy stanovenia obsahu voľných mastných kyselín.

Obsah voľných mastných kyselín sa porovnával s obsahom tuku, s počtom somatických buniek a počtom psychrotrofných baktérií vo vzorkách mlieka. Medzi týmito parametrami sa nezistili súvislosti (výsledky neuvádzame). Taktiež Evers (2003) nezistil koreláciu medzi obsahom tuku a obsahom voľných mastných kyselín. Je však pravdepodobné, že pri dlhšom skladovaní mlieka v chlade, by sa mohol uplatniť aj vplyv mikrobiálnych lipáz na mliečny tuk (Vyletěllová et al., 2000).

Na základe toho predpokladáme, že zistené rozdiely v obsahu voľných mastných kyselín najpravdepodobnejšie súvisia s mechanickým namáhaním a chladením mlieka. Výsledky štatistického vyhodnotenia rozdielov v obsahu voľných mastných kyselín medzi jednotlivými vzorkami sú uvedené v tabuľke 1.

Tabuľka 1: Štatistické vyhodnotenie rozdielov obsahu FFA vo vzorkách mlieka (Wilcoxon test)

	Zimné obdobie (január – marec)	Jarné obdobie (apríl – jún)	Celé obdobie (január – jún)
1:2	-	-	-
1:3	-	-	+
1:4	-	-	-
2:3	+	-	+
2:4	-	-	+
3:4	-	+	++

Vysvetlivky: 1,4 – cisternové vzorky; 2,3 – bazénové vzorky

⁻P>0,05 – štatisticky nepreukazný rozdiel, ⁺P<0,05 – štatisticky preukazný rozdiel, ⁺⁺P<0,01 – štatisticky vysoko preukazný rozdiel

Z výsledkov vyplýva, že sa zistil štatisticky preukazný rozdiel v obsahu voľných mastných kyselín medzi cisternovými a bazénovými vzorkami a medzi jednotlivými bazénovými vzorkami počas polročného sledovania. To potvrdzuje náš predpoklad, že prítomnosť voľných mastných kyselín v sledovaných vzorkách mlieka súvisí predovšetkým s mechanickým namáhaním mlieka.

Záver

Kvalita surového mlieka výraznou mierou ovplyvňuje kvalitu mliečnych výrobkov. Vyšší obsah voľných mastných kyselín spôsobuje nielen zmeny senzorických vlastností mlieka a mliečnych výrobkov, ale môže spôsobiť aj technologické problémy, napr. pri odstreďovaní mlieka sa zhoršuje ostrosť odstreďovania, zhoršuje sa šľahateľnosť smotany a pod. Sledovanie voľných mastných kyselín v mlieku a študovanie faktorov, ktoré ovplyvňujú ich obsah je preto pre mliekarenskú prax opodstatnené.

Literatúra

- Deeth, C. H. Lipoprotein lipase and lipolysis in milk. *International Dairy Journal*, vol. 16, 2006, pp. 555-562.
- Evers, J. M. Determination of free fatty acids in milk using the BDI method – Some practical and theoretical aspects. *International Dairy Journal*, vol. 13, 2003, pp. 111-121.
- Liu, Z., Logan, A., Cocks, B. G., Rochfort, S. Seasonal variation of polar lipid content in bovine milk. *Food Chemistry*, vol. 237, 2017, pp. 865-869.
- Vidanarachchi, J. K., Li, S., Lundh, A. S., Johansson, M. Short communication: Lipolytic activity on milk fat by *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* strains commonly isolated in Swedish dairy herds. *Journal of Dairy Science*, vol. 98, 2015, pp. 8560-8564.
- Vyletětlová, M., Ficnar, J., Hanuš, O. Vliv lipolytických enzymů *Pseudomonas fluorescens* na uvolňování mastných kyselin z mléčného tuku. *Czech J. Food Sci.*, vol. 18, 2000, pp. 175-182.
- Wiking, L., Bjarck, L., Nielsen, J. H. Influence of feed composition on stability of fat globules during pumping of raw milk. *International Dairy Journal*, vol. 13, 2003, pp. 797-803.
- Wiking, L., Dickow, J.A. Effect of homogenization temperature and pressure on lipoprotein lipase activity and free fatty acids accumulation in milk. *Food and Nutrition Sciences*, vol. 4, 2013, pp. 101-108.
- Wiking, L., Lokke, M. M., Kidmose, U., Sundekilde, U. K., Dalsgaard, T. K., Larsen, T., Feilberg, A. Comparison between novel and standard methods for analysis of free fatty acids in milk - Including relation to rancid flavour. *International Dairy Journal*, vol. 75, 2017, pp. 22-29.
- Wiking, L., Nielsen, J. H., Bavius, A. K., Edvardsson, A., Svennersten-Sjaunja, K. Impact of milking frequencies on the level of free fatty acids in milk, fat globule size, and fatty acid composition. *Journal of Dairy Science*, vol. 89, 2006, pp. 1004-1009.

Pod'akovanie

Práca vznikla na základe riešenia výskumného projektu APVV-16-1244 „Kvalitatívne faktory ovplyvňujúce výrobu a konzumáciu mlieka a syrov“.

Kontaktná adresa

doc. Ing. Margita Čanigová, CSc.
Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
e-mail: margita.canigova@uniag.sk

Vplyv metódy izolácie na rodové zastúpenie izolátov mikroskopických vláknitých húb zo slepačích vajec
Influence of isolation method on the composition of genera of microscopic filamentous fungi detected in chicken eggs

Demjanová, S., Jevinová, P., Pipová, M., Regecová, I.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Cieľom práce bolo porovnanie vplyvu šiestich metód izolácie mikroskopických vláknitých húb na ich rodové zastúpenie v mykoflóre slepačích vajec. Kultivačným vyšetrením 25 kusov slepačích vajec sa získalo spolu 49 izolátov mikromycét. Na základe makroskopických a mikroskopických znakov a pomocou PCR metódy bolo 13 z nich zaradených do rodu *Penicillium*, 25 do rodu *Cladosporium*, 2 do rodu *Aspergillus* a 9 do rodu *Fusarium*. Oplachová metóda sa preukázala ako najúčinnnejšia pre záchyt mikroskopických vláknitých húb z povrchu vaječnej škrupiny. Výsledky práce potvrdili rozdielne rodové zastúpenie mikroskopických vláknitých húb (najmä xerofilných) na povrchu dvoch kultivačných médií (DRBC a DG18) a poukázali na vhodnosť použitia média DG18 pri detekcii mikromycét u slepačích vajec.

Abstract

The aim of this study was to compare the influence of six methods used for isolation of microscopic filamentous fungi from chicken eggs on the composition of mould genera detected. A total of 49 isolates were obtained by mycological examination of 25 hen eggs. Based on macroscopic and microscopic characteristics and the results of PCR method 13 isolates were identified as *Penicillium* spp., 25 as *Cladosporium* spp., 2 as *Aspergillus* spp., and 9 as *Fusarium* spp. The eggshell rinsing method has been proved to be the most suitable method for the isolation of microscopic filamentous fungi. The results of this study confirmed different composition of mould genera (especially xerophilic) on the surface of two culture media (DRBC and DG18), and demonstrated the suitability of DG18 medium for the detection of micromycetes in chicken eggs.

Kľúčové slová: *mikromycéty, izolácia, PCR, slepačie vajcia*

Úvod

Konzumné vajcia, tak ako iné potraviny, predstavujú ideálne prostredie pre rast a množenie mikroskopických vláknitých húb. Na ochrane vnútorného obsahu vajec pred vstupom mikroorganizmov sa podieľa hneď niekoľko štruktúr (Mansour et al., 2015). Kutikula, škrupina a podškrupinové blany vytvárajú prirodzenú bariéru, ktorá ale vplyvom skladovania a starnutia vajec stráca svoje ochranné schopnosti. Mikromycéty sú tak schopné penetrovať svojimi hýfami cez škrupinové póry do vnútorného obsahu vajec a svojou metabolickou činnosťou znižovať ich kvalitu (Perez-Nadales et al., 2014). Produkciou proteolytických a lipolitických enzýmov dochádza k želatinizácii bielka a tvorbe nepríjemného zápachu. Oveľa závažnejším problémom kontaminácie vajec mikroskopickými vláknitými hubami je ale produkcia mykotoxínov (Brown et al., 2012). Alimentárne intoxikácie spôsobené mykotoxínmi sa vo svojom prejave líšia v závislosti od chemickej štruktúry toxínu a jeho afinity k určitému systému.

Vo všeobecnosti môžu mať mykotoxíny dermatotoxické, hematotoxické, hepatotoxické, nefrotoxické, neurotoxické, genotoxické, imunotoxické, estrogénové a karcinogénne účinky (Hassan et al., 2005). Tento fakt má za následok výrazné ekonomické straty a riziko intoxikácie predstavujúce nebezpečenstvo pre verejné zdravie (Rodríguez et al., 2015). Medzi najčastejšie kontaminujúce mikroskopické vlákňité huby patria *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp., *Aspergillus* spp., *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Mucor* spp. a *Rhizopus* spp. Ich zdrojom môže byť vzduch, podstielka, trus, materiál použitý na hniezdo, nesprávna manipulácia a sanitácia, pričom k rastu mikromycét prispieva najmä zvýšená vlhkosť vzduchu a teplota okolia (Al-Obaidi et al., 2011).

Materiál a metodika

Mikromycéty boli izolované z 25 kusov slepačích vajec podľa pokynov STN ISO 21527-1 a STN ISO 21527-2 za použitia šiestich metód izolácie: (A) oplachová metóda bez Tweenu 80, (B) oplachová metóda s Tweenom 80 (0,05 %), (C) drviaca metóda bez Tweenu 80, (D) drviaca metóda s Tweenom 80 (0,05 %), (E) izolácia mikromycét z vaječného obsahu s Tweenom 80 (0,05 %) a (F) izolácia mikromycét z obsahu vajec bez Tweenu 80. Získaná základná suspenzia a následné desaťnásobné riedenia sa metódou rozteru v množstve 0,1 ml naočkovali na povrch agarového média DG18 s dichlóranom a glycerolom a agarového média DRBC s dichlóranom, bengálskou ružovou a chloramfenikolom (Oxoid, Veľká Británia) a inkubovali sa 5 dní pri teplote 25 °C. Porastené kolónie boli následne preočkované na povrch agarového média s kvasničným extraktom a sacharózou (YES), Czapekovho agarového média s kvasničným extraktom (CYA) (Hi-Media, India), zemiakového agarového média s dextrózou (PDA) a Sabouraudovho agarového média s dextrózou (SDA) (Oxoid, Veľká Británia) a inkubované 7 dní pri teplote 25 °C. Fenotypová identifikácia bola vykonávaná v závislosti od rodovej príslušnosti podľa kritérií viacerých autorov (Frisvad a Samson, 2004; Schubert et al., 2007; Tančinová et al., 2012; Bensch et al., 2015). Makroskopickým a mikroskopickým vyšetrením sa potvrdili charakteristické morfologické znaky zástupcov rodu *Cladosporium*, *Penicillium*, *Fusarium* a *Aspergillus*. Z izolátov sa izolovala DNA pomocou E.Z.N.A.[®] Fungal DNA Mini Kit (Omega Bio-Tek, USA). Takto získaná DNA bola podrobená meraniu čistoty a koncentrácie na BioSpec nanometer spektrofotometer (Shimadzu, Rakúsko). Izoláty mikromycét boli následne identifikované metódou PCR podľa viacerých štúdií (Pedersen et al., 1997; Abd-Elsalam et al., 2003; Zeng et al., 2006; Buess et al., 2012) za použitia FIREpol[®] Master Mix (Ecoli s.r.o., SR). Amplifikované špecifické PCR produkty v množstve 5 µl boli analyzované v 1,5 % agarózovom géli v TBE (Tris-borát-EDTA) tlmivom roztoku. Do agarózového gélu sa kvôli vizualizácii DNA pridávala Gel[™] Red (Biotium Inc., USA). Po nanosení produktov do agarózového gélu prebiehala elektroforéza približne 1 hodinu pri 120 V a následne boli jednotlivé produkty vizualizované pomocou readeru Mini Bis Pro[®] (DNR Bio-Imaging Systems Ltd., Izrael). Veľkosť výsledných PCR produktov sa určila na základe ich pohyblivosti v agarózovom géli v porovnaní s 100 bp štandardou (Sigma-Aldrich, USA).

Výsledky a diskusia

Kultivačným mykologickým vyšetrením slepačích vajec sa získalo spolu 49 izolátov mikromycét. Na základe makroskopických a mikroskopických znakov a výsledkov PCR metódy boli mikromycéty zaradené do rodov *Penicillium* (13 izolátov), *Cladosporium* (25 izolátov), *Aspergillus* (2 izoláty) a *Fusarium* (9 izolátov).

Tabuľka 1: Rodové zastúpenie mikromycét izolovaných zo slepačích vajec s použitím šiestich metód (A – F)

Rody mikromycét	Metóda											
	A		B		C		D		E		F	
	DRBC	DG18	DRBC	DG18	DRBC	DG18	DRBC	DG18	DRBC	DG18	DRBC	DG18
<i>Penicillium</i>	2	3	3	2	-	-	-	-	-	2	-	1
<i>Cladosporium</i>	5	6	1	-	-	-	1	-	-	-	5	7
<i>Aspergillus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Fusarium</i>	1	-	4	-	3	-	-	-	-	-	1	-

Ako znázorňuje Tabuľka 1, najviac mikromycét bolo izolovaných oplachovou metódou zo škrupiny vajec bez použitia Tweenu 80 (A) a z vnútorného obsahu vajec, taktiež bez použitia Tweenu 80 (F). Drviaca metóda s Tweenom 80 (D) ako aj bez Tweenu 80 (C) sa preukázala ako najmenej vhodná pre záchyt mikromycét. Podobný výsledok malo aj použitie metódy izolácie mikromycét z obsahu vajec s použitím Tweenu 80 (E).

Podľa STN ISO 21527-1 sa na izoláciu mikroskopických vláknitých húb z potravín s aktivitou vody väčšou ako 0,95 (medzi ktoré patria aj konzumné vajcia), má používať agarové médium DRBC. Avšak výsledky tejto štúdie potvrdili vyšší záchyt mikromycét pri použití agarového média DG18, a to nielen pri oplachovej metóde škrupiny vajec (A), ale aj pri izolácii mikromycét z vaječného obsahu (F).

Pri oplachovej metóde bez použitia Tweenu 80 (A) boli v najväčšom počte izolované mikromycéty *Cladosporium* spp. Pri rovnakej metóde s použitím Tweenu 80 (B) bola izolovaná len jedna kolónia *Cladosporium* spp. na DRBC médiu. Pri izolácii mikromycét z vaječného obsahu bez použitia Tweenu 80 (F) bolo taktiež najviac izolátov zaradených do rodu *Cladosporium*. Najviac mikromycét *Fusarium* spp. bolo izolovaných na DRBC médiu oplachovou metódou s použitím Tweenu 80 (B). *Aspergillus* spp. bol izolovaný len na médiu DG18 z obsahu vajec bez použitia Tweenu 80 (F). Mikromycéty *Penicillium* spp. boli izolované z povrchu škrupiny (A, B) aj z vaječného obsahu (E, F), pričom Tween 80 nemal vplyv na ich záchyt.

Záver

Z našej práce vyplýva, že najúčinnjšou metódou na izoláciu mikroskopických vláknitých húb z vaječnej škrupiny je oplachová metóda, pričom použitie Tweenu 80 nemá na záchyt výrazný vplyv. Rast kolónií na médiu DG18 naznačuje prítomnosť xerofilných mikromycét na povrchu vaječnej škrupiny. Preto stojí za zváženie použitie uvedeného média aj pri detekcii mikroskopických vláknitých húb z konzumných vajec.

Literatúra

- Abd-El salam, K.A., Aly, I.N., Abdel-Satar, M.A., Khalil, M.S., Verreet, J.A. PCR identification of *Fusarium* genus based on nuclear ribosomal-DNA sequence data. Afr. J. Biotechnol. 2003, 2: 82-85. ISSN 1684-5315.
- Al-Obaidi, F.A., Al-Shadeedi, S.M.J., Al-Dalawi, R.H. Quality, chemical and microbial characteristics of table eggs at retail stores in Baghdad. Inter. J. Poultry Sci. 2011, 10: 381-385. ISSN 1994-7992.
- Bensch, K., Groenewald, J.Z., Braun, U., Dijksterhuis, J., De Jesús Yáñez-Morales, M., Crous, P.W. Common but different: The expanding realm of *Cladosporium*. Studies in Mycology. 2015, 82: 23-74. ISSN 0166-0616.

- Brown, G.D., Denning, D.W., Gow, N.A., Levitz, S.M., Netea, M.G., White, T.C. Hidden killers: Human fungal infections. *Sci. Transl. Med.* 2012, 4: 165rv13. ISSN 1946-6242.
- Buess, M., Cathomas, G., Halter, J., Junker, L., Grendelmeier, P., Tamm, M., Stolz, D. *Aspergillus*-PCR in bronchoalveolar lavage for detection of invasive pulmonary aspergillosis in immunocompromised patients. *BMC Infectious Diseases.* 2012, 12: 237. ISSN 1471-2334.
- Frisvad, J.C., Samson, R.A. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Studies in Mycology.* 2004, 49: 1-174. ISSN 0166-0616.
- Hassan, Z.U., Ahmad, S. Transfer of mycotoxin residues in hen's egg, their interaction and mechanism. *Handbook of eggs in human function. Human Health Handbooks.* 2015, 9: 365 – 386. ISBN 978-90-8686-254-2.
- Hoog, G.S., Crous, P.W. Biodiversity in the *Cladosporium herbarum* complex (*Davidiellaceae, Capnodiales*), with standardisation of methods for *Cladosporium* taxonomy and diagnostics. *Studies in Mycology.* 2007, 58:105-156. ISSN 0166-0616.
- Mansour, A.F.A., Zayed, A.F., Basha, O.A.A. Contamination of the shell and internal content of table eggs with some pathogens during different storage periods. *Assiut Vet. Med. J.* 2015, 61: 8-15. ISSN 2314-5226.
- Pedersen, L.H., Skouboe, P., Boysen, M., Soule, J., Rossen, L. Detection of *Penicillium* species in complex food the polymerase chain reaction samples using. *Int. J. Food Microbiol.* 1997, 35: 169-177. ISSN 0168-1605.
- Perez-Nadales, E., Noqueira, M.F., Baldin, C., Castanheira, S., El Ghalid, M., Grund, E., Lengeler, K., Marchegiani, E., Mehrotra, P.V., Naik, V., Osés-Ruiz, M., Oskarsson, T., Schäfer, K., Wasserstrom, L., Brakhage, A.A., Gow, N.A., Kahmann, R., Lebrun, M.H., Perez-Matrin, J., Di Pietro, A., Talbot, N.J., Toquin, V., Walter, A., Wendland, J. Fungal model systems and the elucidation of pathogenicity determinants. *Fungal Genetics and Biology*, vol. 2014, 70: 42-67. ISSN 1087-1845.
- Rodríguez, A., Rodríguez, M., Anreade, M.J., Córdoba, J.J. Detection of filamentous fungi in foods. *Curr. Opin. Food Sci.* 2015, 5: 36-42. ISSN 2214-7993.
- Schubert, K., Groenewald, J.Z., Braun, U., Dijksterhuis, J., Starink, M., Hill, C.F., Zalar, P., De STN ISO 21527-1: Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu kvasiniek a plesní. Časť 1: Metóda počítania kolónií vo výrobkoch s aktivitou vody väčšou ako 0,95.
- STN ISO 21527-2: Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu kvasiniek a plesní. Časť 2: Metóda počítania kolónií vo výrobkoch s aktivitou vody menšou ako 0,95 alebo rovnajúcou sa 0,95.
- Tančinová, D., Mašková, Z., Felšöciová, S., Dovičičová, M., Barboráková, Z. Úvod do potravinárskej mykológie: Kľúč na identifikáciu potravinársky významných vláknitých mikroskopických húb. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre. 2012: 286 s. ISBN 978-80-552-0753-7.
- Zeng, Q.Y., Westermarck, S.O., Rasmuson-Lestander, Å., Wang, X.R. Detection and quantification of *Cladosporium* in aerosols by real-time PCR. *J. Environ. Monitoring.* 2006, 8:153-160. ISSN 1464-0333.

Pod'akovanie

Práca bola podporená grantom VEGA 1/0705/16.

Kontaktná adresa

Mgr. Soňa Demjanová, UVLF v Košiciach, Katedra hygieny a technológie potravín, Ústav hygieny a technológie mäsa, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika, e-mail: Sona.Demjanova@student.uvlf.sk

Stanovení fluorochinolonů UPLC-FLD: Kvalita medu na českém trhu *The Determination of Fluoroquinolones by UPLC-FLD: Honey Quality in the Czech Market*

Dluhošová, S., Kaniová, L., Borkovcová, I., Vorlová, L.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Experiment byl zaměřen na stanovení šesti fluorochinolonových chemoterapeutik – marbofloxacinu, norfloxacinu, ciprofloxacinu, danofloxacinu, enrofloxacinu, flumequinu – v medech pomocí ultra účinné kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí (UPLC-FLD). Pro preanalytickou přípravu byla provedena modelová studie zahrnující pracovní postupy s využitím extrakce na pevnou fázi (SPE) a bez extrakční metody. Na základě dosažených výsledků v modelové studii byly vzorky medu připraveny postupem bez extrakce. Bylo vyšetřeno 20 medů z české tržní sítě na přítomnost reziduí fluorochinolonů. V analyzovaných medech nebyla prokázána rezidua fluorochinolonů při využití UPLC-FLD.

Abstract

This experiment was focused on the determination of six fluoroquinolone chemotherapeutics – marbofloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin, danofloxacin, enrofloxacin, flumequine – in honeys by using ultra performance liquid chromatography with fluorescence detection (UPLC-FLD). A model study was carried out for pre-analytical treatment and included solid phase extraction (SPE) and non-extraction procedures. Due to the reached results in the model study, honey samples were prepared without extraction method. Twenty honeys from the Czech market were analysed on the content of fluoroquinolone residues. Fluoroquinolone residues were not prove in analysed honeys.

Klíčová slova: rezidua léčiv, mor včelího plodu, hniloba včelího plodu, SPE

Úvod

Mor včelího plodu a hniloba včelího plodu se svými původci *Paenibacillus larvae* a *Melisococcus plutonius* jsou nebezpečnými nákazami včelího plodu (Reybroeck et al., 2012; zákon č. 166/1999, Sb.). Značná odolnost spor *P. larvae*, adaptace patogenů na larvální vývojová stádia včel, nepodchycení prvních klinických příznaků ve včelstvu a podobný průběh obou infekcí vedly ve státech Evropské unie (EU) ke zvolení radikální likvidace včelstev a včelařského zařízení spálením. Pro tato onemocnění zde není povolena aplikace veterinárních léčiv na bázi antibiotik a pro med jako potravinu živočišného původu nejsou nastaveny maximální limity reziduí (Ministerstvo zemědělství ČR, 2017; Nařízení Komise 37/2010). Ve státech mimo EU tyto legislativní předpisy neplatí, a proto se můžeme setkat s aplikací různých antibiotik. Jednou z nejčastěji aplikovaných skupin antibiotik u těchto onemocnění včelího plodu jsou vedle sulfonamidů a tetracyklinů právě fluorochinolony. Jedná se o širokospektrální antibakteriální látky s baktericidní aktivitou, které obsahují ve své molekule atom fluoru. Pro jejich účinky a snadnou dostupnost jsou ve včelařství především používány marbofloxacin, ciprofloxacin, enrofloxacin a flumequin (Reybroeck et al., 2012; Galarini et al., 2015; Jin et al., 2017; Lombardo-Agui et al.,

2012; Yu et al. 2011; Zhou et al., 2009; Rose et al., 1998). Jako potravina živočišného původu je med specifický svou produkcí včelami medonosnými (*Apis mellifera*) z nektaru či medovice. Stejně tak je med jedinečný svým složením (Codex Standard for Honey, 2001; vyhláška č. 76/2003, Sb.). Spotřebitelé tedy očekávají přírodní potravinu s obsahem zdraví prospěšných látek. Z hlediska mnohdy omezené dostupnosti a vysoké ceny této suroviny je vyšší pravděpodobnost jejího falšování nebo průkazu přítomnosti látek medu cizích, například reziduí veterinárních léčiv. V případě dovozu medů ze třetích zemí je případný záchyt reziduí veterinárních léčiv vyšší s ohledem na možnosti terapie včel při propuknutí nemocí.

V této studii byly vyzkoušeny dvě metody preanalytické přípravy vzorku s využitím fluorescenční detekce, která využívá schopnosti látek fluoreskovat a je pro mnohé potravinové matrice hodnocena jako metoda selektivní a citlivá (Prat et al., 2004; Hermo et al., 2008; Rose et al., 1998; Zhou et al., 2009). Ve dvaceti medech z českého trhu byl hodnocen obsah reziduí šesti fluorochinolonů. Cílem studie bylo prokázat nepřítomnost reziduí fluorochinolonů z důvodu platné evropské legislativy.

Materiál a metodika

Standardy a chemikálie:

Chemikálie byly analytického stupně čistoty. Pro experiment byly použity standardy fluorochinolonů (FQs): marbofloxacin (MARBO), norfloxacin (NORFL), ciprofloxacin (CIPRO), danofloxacin (DANO), enrofloxacin (ENRO) a flumequin (FLUME) ze Sigma-Aldrich, Německo. Dále byly použity chemikálie kyselina trifluoroctová (Sigma-Aldrich, Německo); acetonitril, methanol (Merck, Německo). Deionizovaná voda byla připravena použitím zařízení Aqua Osmotic 03 (Tišnov, ČR).

Instrumentace:

Pro studii bylo využito následujících pracovních pomůcek: analytické váhy Kern (Balingen, Německo); SPE manifold a vakuová pumpa Vac-space 50 (Fisher Scientific, Německo); vakuová rotační odparka (Büchi Labortechnik AG, Švýcarsko); ultrazvuková vodní lázeň (Kraintek, Slovensko) pro odplynění mobilních fází. Pro optimalizaci preanalytického postupu byly použity kolony pro SPE Oasis HLB 6 ml, 200 mg (Waters, Irsko). Chromatografická analýza byla provedena za použití modulu Acquity s fluorescenčním detektorem (Waters, USA) a separační kolony Acquity UPLC BEH C 18 2,1 x 100 mm, 1,7 µm (Waters, Irsko).

Vzorky:

Pro sledování obsahu reziduí FQs v medech na českém trhu bylo zakoupeno 20 medů různého botanického a geografického původu. Květový med z tržní sítě (Billa, ČR) byl použit pro modelovou studii.

Příprava roztoků:

Zásobní roztoky standardů FQs byly ředěny do methanolu v koncentraci 1 mg/ml pro MARBO, NORFL, CIPRO, ENRO a FLUME; pro DANO byl zásobní roztok v koncentraci 0,1 mg/ml. Takto byly roztoky uchovány v lednici při teplotě 4±2 °C po dobu jednoho měsíce. Pro modelovou studii byly připraveny směsné matricové roztoky standardů v koncentracích 1, 5 a 10 µg/ml (MARBO, NORFL, CIPRO, ENRO, FLUME). DANO byl vždy v 10x nižší koncentraci (tj. 0,1; 0,5; 1,0 µg/ml). Tyto roztoky byly připravovány vždy čerstvě rozpuštěním v deionizované vodě.

Příprava vzorků:

Pro modelovou studii a optimalizaci preanalytické přípravy medové matrice byly zkoušeny dva pracovní postupy: SPE a jednoduchý postup bez extrakce.

Ke dvěma gramům medu byly přidány standardy FQs ve třech koncentračních úrovních (viz *Příprava roztoků*). Každá koncentrační úroveň byla připravena ve dvanácti nezávislých stanoveních.

SPE metoda: SPE kolonky Oasis HLB (6 ml, 200 mg) byly před nanesením modelového vzorku medu kondicionovány a ekvilibrovány methanolem a deionizovanou vodou. Po nanesení vzorku byla SPE kolonka promyta 5% methanolem a vysušena pod vakuem. Analyty byly eluovány methanolem. Rozpouštědlo bylo následně odpařeno na vakuové rotační odparce při 55 °C do sucha. Analyty byly rekonstituovány v mobilní fázi A (0,1% vodný roztok kyseliny trifluoroctové). Vzorky byly přefiltrovány a dány k chromatografické analýze.

Metoda bez extrakce: Modelové vzorky medu obohacené o standardy FQs byly přefiltrovány a analyzovány.

Chromatografická analýza:

Separace analytů proběhla na modulu Acquity s fluorescenčním detektorem. Analyty byly separovány na koloně Acquity UPLC BEH C18 2,1 x 100 mm, velikost částic 1,7 µm. Jako mobilní fáze byly použity 0,1% vodný roztok kyseliny trifluoroctové (A) a 10% směs methanolu v acetonitrilu (B) při průtoku 0,5 ml/min a gradientové eluci 0-6 min, 18 % B; 6-6,5 min, 70 % B; 6,5-8 min, 18 % B; teplotě na koloně 35 °C; velikosti nástřiku 1 µl; době analýzy 8 minut. Pro FLD byly použity vlnové délky λ_{ex}/em. 280/450 nm (NORFL, CIPRO, DANO, ENRO), 294/514 nm (MARBO) a 312/366 nm (FLUME). Pro sběr dat a jejich vyhodnocení byl použit software Empower 2 (Waters, USA) a metoda kalibrační přímky.

Výsledky a diskuze

Modelová studie

Tabulka 1: Srovnání pracovních postupů na základě výtěžností (R [%]) pro fluorochinolony; průměrné hodnoty z dvanácti paralelních stanovení; analýza UPLC-FLD

Analyt	1 µg/ml		5 µg/ml		10 µg/ml	
	SPE	bez SPE	SPE	bez SPE	SPE	bez SPE
MARBO	74,2	94,0	78,9	85,3	72,1	90,9
NORFL	75,6	101,8	72,8	92,6	62,5	96,1
CIPRO	75,4	98,7	77,1	98,3	65,7	101,7
DANO*	44,7	94,9	58,3	93,4	51,5	93,1
ENRO	79,5	98,8	84,5	86,1	70,9	89,5
FLUME	87,5	91,8	87,8	75,7	79,2	83,5

UPLC-FLD, ultra účinná kapalinová chromatografie s fluorescenční detekcí; SPE, extrakce na pevnou fázi; MARBO, marbofloxacin; NORFL, norfloxacin; CIPRO, ciprofloxacin; DANO, danofloxacin; ENRO, enrofloxacin; FLUME, flumequin

* v 10x nižší koncentraci

Med je velmi komplexní potravinu přírodního charakteru obsahující řadu sloučenin, které mohou komplikovat následnou analýzu. Proto byla pro preanalytickou přípravu

volena metoda SPE, během níž dojde k odstranění látek interferujících a případnému zakoncentrování sledovaného analytu. Pro stanovení (fluoro)chinolonů v různých potravinách živočišného původu se používají SPE kolonky s různými typy sorbentů založené na iontové výměně či polymerní sorbenty s vyváženými hydrofilně-lipofilními vlastnostmi (BondElut, MCX, SCX, Strata X-C, Strata X, HLB). V modelové studii bylo využito sorbentu s širokým rozmezím pH pro analyty, který je univerzální pro většinu potravinových matric (Galarini et al., 2015; Rose et al., 1998; Prat et al., 2004; Hermo et al., 2008).

Byla provedena jednoduchá příprava vzorku, kde byl extrakční krok vynechán. Na základě výsledků výtěžnosti analytů uvedených v tabulce 1 byl zvolen postup jednoduché přípravy bez extrakce pro monitoring obsahu FQs v medech z českého trhu.

Medy z tržní sítě

Analýzou medů zakoupených v české tržní síti nebyly prokázány metodou UPLC-FLD rezidua fluorochinolonů. Medy pocházely ze států EU i ze států mimo EU a některé byly označeny jako směsi medů ze zemí EU a mimo země EU.

Impulzem pro tuto studii bylo hlášení Státní zemědělské a potravinářské inspekce ČR (SZPI ČR) v letech 2015 – 2016 o výskytu reziduí sulfonamidů, aminoglykosidů a amfenikolů v medech prodávaných v ČR. Nebyla zjištěna přítomnost reziduí FQs, což dokládají i záznamy portálu Systému rychlého varování pro potraviny a krmiva (RASFF), kdy mezi lety 2008 a 2018 nebyl hlášen na území ČR obsah reziduí FQs v medech (RASFF portal, 2018; SZPI, 2015; SZPI, 2016). Dle Galarini et al. (2015) byla tímto systémem zaznamenána v letech 2009 – 2013 pouhá tři procenta přítomnosti FQs v medu. Porušení se týkalo obsahu ciprofloxacinu (5,4 a 6,1 µg/kg) a enrofloxacinu (49 µg/kg) a jednalo se o medy dovezené z Číny a Argentiny (RASFF portal, 2018).

Závěr

Cílem práce bylo zhodnotit kvalitu medů prodávaných na území ČR z hlediska obsahu reziduí fluorochinolonů metodou kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí. Jednoduchým optimalizovaným pracovním postupem bez extrakčního kroku byly připraveny komerční vzorky medu. Výsledkem byla nepřítomnost reziduí fluorochinolonů ve vybraných medech, které tak byly v souladu s evropskou legislativou.

Literatura

Na vyžádání u autorky.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem IGA 214/2016/FVHE VFU Brno.

Kontaktní adresa

MVDr. Sandra Dluhošová
VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav hygieny a technologie mléka
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno,
e-mail: sandradluhosova@seznam.cz

Stanovení barvy u vybraných druhů pečiva *Determination of color for selected types of pastry*

Doležalová, J., Kučerová, T., Dvořák, P.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Ke stanovení barvy bylo vybráno šest druhů běžně dostupného, tmavého pečiva, z toho jeden vzorek tukového rohlíku. Pomocí přístroje Superchroma S-Spex byly stanoveny parametry L^* , a^* , b^* a následně byly dopočítány parametry C^* a h° .

Parametr L^* se pohyboval v rozmezí od $50,94 \pm 1,79$ do $75,75 \pm 2,96$. Nejvyšších hodnot dosáhl vzorek č. 6 - Tukový rohlík. Parametr a^* měl rozmezí od $1,00 \pm 2,05$ do $6,21 \pm 0,58$. Nejvyšších hodnot dosáhl vzorek č. 5 - Raženka celozrnná. V důsledku Maillardovy reakce lze předpokládat vyšší podíl cukru, u tohoto výrobků, a tím i větší podíl červené barvy. Parametr b^* představoval rozmezí hodnot od $10,45 \pm 0,54$ do $15,25 \pm 1,40$. Podíl žluté barvy úzce souvisí s přídatnými surovinami. Parametr C^* , kopíruje parametr b^* a dá se předpokládat mezi těmito grafy určitá závislost. Tedy závislost surovin, které ovlivňují jak barvu výrobku, tak její sytost. Největší úhel parametru h° byl prokázán u vzorku č. 6 ($1,51 \pm 0,10$) s nejvyšší směrodatnou odchylkou.

U všech druhů pekařských výrobků byl prokázán statisticky významný rozdíl ($\alpha = 0,05$). Bylo zjištěno, že pórovitost pekařských výrobků má velký vliv na naměřené hodnoty a s ní související vysoké směrodatné odchylky, a proto přístrojové stanovení pečiva není nejvhodnějším způsobem pro zjištění barvy.

Abstract

It was selected six kinds of commercially available, dark pastry, one of the fat sample croissant for determination of color. Using the Superchroma S-Spex machine was set following parameters L^* , a^* , b^* and subsequent parameters c^* a h^* were calculated.

The parameter L^* is ranged from 50.94 ± 1.79 to 75.75 ± 2.96 to do. The highest values reached sample No. 6 - Fat Croissant. Parameter a^* had range from 1.00 ± 2.05 to 6.21 ± 0.58 . The highest values had reached Sample No. 5 - wholemeal buns. As a result of the Maillard reaction can be expected higher proportion of sugar in this product, and thus a greater proportion of red color. The parameter b^* values represented by the range of 10.45 ± 0.54 to 15.25 ± 1.40 . The Proportion of yellow color closely related to additives raw materials. Parameter C^* , copies parameter b^* and can be expected between these graphs certain dependence. Thus the dependence of raw materials, which affect how the color of the product, so its saturation. The largest angle of the parameter h° was proven in sample no. 6 (1.51 ± 0.10) with the highest standard deviation.

For all kinds of baked products was demonstrated a statistically significant difference ($\alpha = 0.05$). It was found that the porosity of baked products has a great influence on the measured values and with its associated high standard deviations, and because of it instrumentation determination is not the most appropriate setting baking method to determine the color.

Klíčová slova: CIE $L^*a^*b^*$, Superchroma S-Spex, pečivo, pórovitost, pekařské suroviny

Úvod

Pekařské výrobky jsou výrobky, které jsou spotřebiteli denně vyhledávány, a proto je jejich škála na trhu velice široká. Pro velký zájem mohou pak výrobci vymýšlet různé tvary, chutě nebo zcela nové produkty.

Zdravá výživa je aktuálním tématem ve společnosti, a proto roste poptávka po celozrnném pečivu, a to zejména z nutričních důvodů. Aby bylo pečivo označováno za celozrnné, musí jeho těsto obsahovat nejméně nebo jím odpovídající množství upravených obalových částic z obilky. Ovšem někdy tomu tak není. Pečivo tmavé, které neobsahuje celozrnnou mouku, může obsahovat povolená barviva, která musí být uvedena na obale. U čerstvých pekařských výrobků se mnohdy není možné obeznámit s nutričním složením, jelikož se prodávají bez obalových materiálů. Pokud nás nutriční složení zajímá, je možné ho v tržní síti získat na požádání. Většina spotřebitelů si totiž myslí, že čím je produkt tmavší, tím je zdravější.

Barva výrobků může představovat primární parametr, podle kterého se lidé při nákupu rozhodují, a tedy může ovlivňovat jeho prodejnost. Výrobci se snaží zdokonalovat výrobu tak, aby vyhověli požadavkům zákazníka a výsledný produkt se obešel bez přídatných barviv. Jelikož se jedná o produkt každodenního stravování, měl by se výzkum pro pekařské výrobky, daleko více prohloubit a tomuto výrobku věnovat větší pozornost.

Materiál a metodika

Pro stanovení barvy pekařských výrobků bylo použito celkem šest vzorků běžně dostupného pečiva. Vzorek č. 1 – Kaiserka multicereální; Vzorek č. 2 – Kaiserka se špaldou; Vzorek č. 3 – Finn bageta; Vzorek č. 4 – Bageta rustikální s pohankou; Vzorek č. 5 – Raženka celozrnná; Vzorek č. 6 – Tukový rohlík. Všechny vzorky byly nakoupeny v řetězci supermarketu Albert.

Pečivo bylo nakrájeno na 1,5 cm hrubé plátky. Z každého druhu pečiva bylo připraveno deset vzorků, které byly překryty souměrnou vrstvou potravinářské fólie, aby nedošlo k znečištění přístroje.

Stanovení barvy se provádělo spektrofotometricky dle systému CIELAB(CIE 1986) pomocí přenosného spektrofotometru Color Guide Sphere Spex od firmy BYK Gardner po překrytí vzorku potravinářskou folií. Před každým měřením byl přístroj nakalibrován přiložením přístroje kolmo na černý standard a následně i na standard bílý. Kontrola kalibrace se prováděla na zelený standard.

Výsledky byly statisticky zpracovány v programu Microsoft Excel. Byl vypočten aritmetický průměr, směrodatná odchylka a jednotlivé vzorky byly mezi sebou porovnány pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA). Pomocí analýzy rozptylu bylo provedeno vícenásobné porovnávání středních hodnot na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky a diskuze

V tabulce 1 jsou uvedeny hodnoty všech parametrů barvy. U parametru L^* měl nejvyšší hodnotu vzorek č. 6 ($75,75 \pm 2,96$), což může být způsobeno přídatným barvivem β - karotenem, který způsobuje vyšší světlost výrobků. Jeho cílem je potravině poskytnout sytější žlutou barvu, která je u tukového rohlíku pochopitelná (Mayne, 1996). Popov-Raljić (2009) uvádí, že vliv na barvu pekařských výrobků může mít i přídatek emulgátoru, jako je například kyselina askorbová.

Pro pekařské výrobky je charakteristické nahnědlé až červenooranžové zbarvení a tvorba kůrky. Tento jev způsobuje Maillardova reakce, která vzniká v průběhu pečení. Tato reakce je neenzymatická a dochází zde k reakci redukujících cukrů s aminosloučeninami, za vzniku melanoidinů, tedy pigmentů, které určují výrobkům typickou vůni, chuť a zbarvení. Morales (2001) uvádí, že reakční produkty Maillardovy reakce jsou z technologického hlediska nezbytné a ovlivňují trvanlivost pekařských výrobků. Mezi vzorky u parametru a^* je vidět statisticky významný rozdíl. Nejvyšších hodnot dosáhl vzorek č. 5 ($6,21 \pm 0,58$). Z hlediska Maillardovy reakce se dá předpokládat, že vzorek č. 5 obsahoval nejvyšší podíl cukru, a tím je hodnota parametru a^* nejvyšší.

U parametru b^* nejvyšší hodnoty byly dosaženy u vzorku č. 2 ($15,25 \pm 1,40$) a č. 5 ($14,44 \pm 0,79$). Nejnižší hodnota byla dosažena u vzorku č. 1 ($10,45 \pm 0,54$). Vzorek č. 2 obsahoval špaldovou mouku, len, kukuřičnou krupici a pšeničnou celozrnnou mouku. Vlivem těchto surovin, lze dle Čáslavkové (2014) tvrdit, že vyšší intenzitu barvy parametru b^* , způsobují právě tyto suroviny. Ve vzorku č. 5 ($14,44 \pm 0,79$) byla obsažena ječná sladová mouka, a ta je dalším atributem pro vyšší intenzitu barvy. Stejně tak u vzorku č. 4 ($14,00 \pm 1,49$), který obsahoval 26 % pohanky.

Parametr C^* znázorňuje sytost, vzdálenost či odlišnost barvy od barevné šedi a je parametrem chromatické složky barevného vidění. Z tabulky vyplývá, že nejvyšší sytost má vzorek č. 2 ($16,16 \pm 1,79$) a vzorek č. 5 ($15,73 \pm 0,75$).

Parametr h° od slova „hue h°_{ab} “ udává měrný úhel barevného tónu (odstín), ve stupních. Dle Frasera (2003) lze definovat, že všechny naměřené hodnoty jsou v kladných rovinách a^* (0°). Největší odstín byl zaznamenán u vzorku č. 6 ($1,51 \pm 0,10$), s nejvyšší směrodatnou odchylkou. Jelikož měl vzorek č. 6 i vysokou hodnotu L^* , dá se předpokládat, že světlá mouka v tukovém rohlíku ovlivňuje i parametr h° . Nejnižšího výsledku dosáhl vzorek č. 1 ($1,13 \pm 0,03$).

Tabulka 1: Barevné parametry u jednotlivých druhů pečiva

	L^*	a^*	b^*	C^*	h°
Vzorek č. 1	$50,94^{a,b,c} \pm 1,79$	$4,92^{b,c,d} \pm 0,33$	$10,45^a \pm 0,54$	$11,56^{a,b} \pm 0,54$	$1,13^{a,b,c} \pm 0,03$
Vzorek č. 2	$62,69^{a,b,c} \pm 1,37$	$5,27^{a,d} \pm 1,46$	$15,25^a \pm 1,40$	$16,16^b \pm 1,79$	$1,24^{a,c} \pm 0,06$
Vzorek č. 3	$54,27^{b,c} \pm 2,20$	$5,42^{b,d} \pm 0,58$	$13,93^a \pm 1,60$	$14,96^b \pm 1,56$	$1,20^b \pm 0,05$
Vzorek č. 4	$51,60^{a,c} \pm 2,52$	$5,63^{c,d} \pm 0,66$	$14,00^a \pm 1,49$	$15,10^{a,b} \pm 1,50$	$1,19^a \pm 0,04$
Vzorek č. 5	$54,78^a \pm 2,35$	$6,21^{b,d} \pm 0,58$	$14,44^a \pm 0,79$	$15,73^b \pm 0,75$	$1,16^c \pm 0,04$
Vzorek č. 6	$75,75^{a,b,c} \pm 2,96$	$1,00^{a,b,c,d} \pm 2,05$	$13,90^a \pm 2,19$	$14,02^b \pm 2,54$	$1,51^{a,b,c} \pm 0,10$

Vysvětlivky: a-d $p < 0,05$

V tabulce 2 jsou uvedeny hodnoty F, které jsou ve všech případech vyšší než kritická hodnota, což poukazuje na průkazné rozdíly mezi jednotlivými druhy pečiva.

Tabulka 2: Výsledné hodnoty F u barevných parametrů pečiva

	Druhy pečiva (Vzorek č. 1 - 6)	
	F	F_{krit}
L^*	176,88	2,386
a^*	28,14	
b^*	13,18	
C^*	10,82	
h	61,47	

Závěr

Z výsledných hodnot bylo zjištěno, že všechny vzorky mají mezi sebou v jednotlivých parametrech L^* , a^* , b^* , C^* a h° , významný rozdíl, a to v důsledku jeho pórovitosti, která je hlavním faktorem významně vyšších odchylek. Dále byla zjištěna přítomnost barviva β - karotenu ve vzorku č. 6 a jeho vliv na parametr L^* , který dosahoval nejvyšších hodnot. Přídavek cukru byl prokázán u vzorku č. 5, parametru a^* , z hlediska Maillardovy reakce. Vliv přídatných surovin do pekařských výrobků významně ovlivňuje jeho celkový vzhled a výslednou barvu. Bylo zjištěno, že suroviny, jako je pohanka, len nebo kukuřice významně ovlivňují barvu a její celkovou sytost.

Barva pečiva je pro spotřebitele velmi významná, ale vzhledem k velké pórovitosti pečiva není přístrojové stanovení úplně optimální. Lepší by bylo stanovení barvy mouky, před samotným pečením, kde by se vyloučila změna barvy vlivem rozdílné homogenity pečiva. Tato práce proto může sloužit jako podklad, pro další experimenty v okruhu pekařství.

Literatura

Seznam použité literatury a citovaných zdrojů je k dispozici u autora.

Kontaktní adresa

Ing. Jana Doležalová, Ph.D.

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie

Ústav gastronomie

Palackého tř. 1946/1612 42 Brno

email: dolezalovaj@vfu.cz

Možnosti stanovení barvy u špekáčků a kabanosů *Determination of color in selected sausages*

Doležalová, J., Vojtíková, L., Dvořák, P.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Ke stanovení barvy byly vybrány vzorky špekáčků a kabanosů od různých výrobců. Pomocí přístroje Superchroma S-Spex byly stanoveny parametry L^* , a^* , b^* a následně byly dopočítány parametry C^* a h° .

Při srovnávání hodnot mezi vzorky od různých výrobců se hodnoty pro parametr L^* u skupiny kabanosů pohybovaly v rozmezí od $59,25 \pm 0,85$ do $66,20 \pm 1,14$ a u špekáčků od $61,33 \pm 2,24$ do $65,84 \pm 0,69$. U kabanosů nejvyšších hodnot dosahoval vzorek č. 5 a u špekáčků vzorek č. 3. Rozpětí hodnot parametru a^* bylo pro kabanosy od $13,51 \pm 0,85$ do $18,00 \pm 0,51$, pro špekáčky od $12,95 \pm 0,62$ do $17,65 \pm 1,16$. Nejvyšší hodnotu tohoto parametru, a tím i větší podíl červené barvy, měly u obou testovaných skupin vzorky č. 4. Parametr b^* měl rozmezí hodnot od $13,20 \pm 0,55$ do $20,00 \pm 0,59$ (kabanosy) a od $13,74 \pm 1,28$ do $21,04 \pm 1,36$ (špekáčky). Nejvyšší hodnoty jak parametru a^* , tak parametru b^* i parametru C^* byly zjištěny u vzorků č. 4. U parametru h° byly hodnoty téměř neměnné, avšak nejvyšší hodnotu měl u kabanosů vzorek č. 2 ($0,85 \pm 0,01$) a u špekáčků vzorky č. 3 a 5 ($0,88 \pm 0,02$).

Bylo zjištěno, že množství tukových částí má na barvu masných výrobků značný vliv, konkrétně na obsah červené barvy a na hodnoty jasu.

Abstract

To determine the color, sausages from different manufacturers were selected. Using the Superchroma S-Spex machine was set following parameters L^* , a^* , b^* and subsequent parameters c^* and h° were calculated.

In the course of comparison values between samples from various producers, values for parameter L^* were in range $59,25 \pm 0,85$ to $66,20 \pm 1,14$ for cabanas and $61,33 \pm 2,24$ to $65,84 \pm 0,69$ for sausages. The sample of cabanas n. 5 had the highest value as well as the sample of sausages n. 3. The range of parameter a^* was for cabanas $13,51 \pm 0,85$ to $18,00 \pm 0,51$, and for sausages $12,95 \pm 0,62$ to $17,65 \pm 1,16$. The highest value had the sample n. 4 for both groups and therefore also larger content of red colour. Parameter b^* had the range of values $13,20 \pm 0,55$ to $20,00 \pm 0,59$ for cabanas and $13,74 \pm 1,28$ to $21,04 \pm 1,36$ for sausages. The values of parameters a^* , b^* and C^* were highest for meat products n. 4. The values of parameter h° were almost invariable but the highest value had sample n. 2 ($0,85 \pm 0,01$) of cabanas and sample n. 2 and 5 ($0,88 \pm 0,02$) of sausages.

It was found that the amount of fat parts has a considerable influence on the color of the meat products, particularly on the content of red color and brightness values.

Klíčová slova: CIE $L^*a^*b^*$, Superchroma S-Spex, masné výrobky

Úvod

Díky jedinečné chuti a vůni jsou masné výrobky velmi atraktivní skupinou potravin pro mnoho konzumentů. Z těchto masných výrobků patří v Česku mezi nejoblíbenější špekáčky a kabanos. Na jejich výjimečném aroma se podílí i uzení, které je

neodmyslitelnou součástí technologického procesu výroby. Konzumace masných výrobků by ale měla být umírněná, protože obsahují i poměrně velké množství škodlivých látek

Se stoupající oblíbeností roste i sortiment masných výrobků. Často se používají různé přísady, které mohou mít vliv na jejich finální barvu. Na barvu masa má vliv spousta faktorů spojených přímo se zvířetem, např. druh, plemeno, věk, fyzická námaha, krmivo, stres a v neposlední řadě i způsob chovu.

Barva je tedy jedním z hlavních faktorů podle, kterého se spotřebitelé řídí při nákupu potravin. U masných výrobků je barva také důležitým parametrem odrážejícím jejich zkázu.

Materiál a metodika

Ke stanovení barvy bylo použito 5 vzorků špekáčků od různých výrobců: Vzorek č. 1 – Horní studénky; Vzorek č. 2 – Drůbežářský závod Klatovy; Vzorek č. 3 – Kostelecké uzeniny; Vzorek č. 4 – Filák; Vzorek č. 5 – Steinhauser. U kabanosů: Vzorek č. 1 – Krásno; Vzorek č. 2 – Krahulík (pikantní); Vzorek č. 3 – Kostelecké uzeniny; Vzorek č. 4 – Filák; Vzorek č. 5 – Steinhauser. Po zakoupení byly výrobky doneseny do laboratoře.

Špekáčky a kabanosy byly nakrájeny pomocí kuchyňského nože přibližně na 1 cm silné plátky. Z každého kusu bylo připraveno deset vzorků. Měření bylo prováděno při laboratorní teplotě 21 ± 2 °C. Stanovení barvy se provádělo spektrofotometricky dle systému CIELAB(CIE 1986) pomocí přenosného spektrofotometru Color Guide Sphere Spex od firmy BYK Gardner po překrytí vzorku potravinářskou folií. Před každým měřením byl přístroj nakalibrován přiložením přístroje kolmo na černý standard a následně i na standard bílý. Kontrola kalibrace se prováděla na zelený standard.

Výsledky byly statisticky zpracovány v programu Microsoft Excel. Byl vypočten aritmetický průměr, směrodatná odchylka a jednotlivé vzorky byly mezi sebou porovnány pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA). Pomocí analýzy rozptylu bylo provedeno vícenásobné porovnávání středních hodnot na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky a diskuze

V Tabulce 1 a 2 jsou uvedeny hodnoty jednotlivých parametrů pro vzorky špekáčků a kabanosů. U parametru L^* měl u špekáčků nejvyšší hodnotu vzorek č. 3

($L^* = 65,84 \pm 0,69$) a naopak nejnižší hodnotu vzorek č. 1 ($L^* = 61,33 \pm 2,24$), kdežto u špekáčků měl nejvyšší hodnotu vzorek č. 5 ($L^* = 66,20 \pm 1,14$) a nejnižší vzorek č. 3 ($L^* = 59,25 \pm 0,85$). Výrazný rozdíl mohl být způsoben obsahem dusitanů v masném výrobku. Katina (2009) uvádí, že dusitany, které se běžně používají při výrobě masných výrobků, se do nich přidávají také z důvodu zajištění růžové barvy.

Oblast mezi červenou a zelenou barvou při měření barvy představuje parametr a^* (Warriss, 2000). Hodnoty parametru a^* u špekáčků i kabanosů hodně kolísají. Mezi vzorky je statisticky velmi významný rozdíl. Nejvyšší hodnoty parametru a^* u obou dosahuje vzorek č. 4 od firmy Filák.

U špekáčků jsou výsledné hodnoty o něco nižší, což může být způsobeno strukturou výrobku, obsahují více tukových částí. Oba výrobky byly výrazně červenější než ostatní.

Hodnoty parametru b^* u obou masných výrobků také kolísají. Nejvyšších hodnot dosahují vzorky č. 4 od firmy Filák, u kabanosu je to hodnota $20,00 \pm 0,59$, u špekáčku

21,04±1,36. Rozdíly jsou taktéž statisticky významné a byly mezi jednotlivými druhy patrné i bez přístrojového stanovení.

Parametr C*, který představuje čistotu barvy, nejvyšších hodnot dosáhl opět u vzorku č. 4 a to u obou masných výrobků.

Parametr h° neboli odstín, který Fraser (2003) definuje jako vlastnost barvy umožňující nám vnímání její dominantní vlnové délky, nepředstavoval velké rozdíly u jednotlivých masných výrobků. Výraznější rozdíly byly u špekáčků.

Tabulka 1: Barevné parametry u špekáčků

	L*	a*	b*	C*	h°
Vzorek č. 1	61,13 ^a ±2,24	13,48 ^{a,b} ±1,51	13,74 ^{b,c} ±1,28	19,25 ^b ±1,91	0,80 ^a ±0,03
Vzorek č. 2	61,88 ^a ±1,78	16,71 ^{a,c,d} ±1,28	14,70 ^{a,b} ±0,88	22,26 ^{a,b,c} ±1,52	0,72 ^{a,b} ±0,02
Vzorek č. 3	65,84 ^b ±0,69	12,95 ^{c,f} ±0,62	15,57 ^{a,b,c} ±0,60	20,26 ^c ±0,77	0,88 ^{a,b} ±0,02
Vzorek č. 4	65,35 ^b ±1,47	17,65 ^{b,e,f} ±1,16	21,04 ^{a,b,c} ±1,36	27,46 ^{a,b,c} ±1,77	0,87 ^{a,b} ±0,01
Vzorek č. 5	65,82 ^b ±1,25	13,13 ^{d,e} ±0,70	15,91 ^{a,b,c} ±0,86	20,63 ^a ±1,05	0,88 ^{a,b} ±0,02

Vysvětlivky: a-f p<0,05

Tabulka 2: Barevné parametry u kabanosů

	L*	a*	b*	C*	h°
Vzorek č. 1	65,93 ^{a,b,c} ±1,91	13,51 ^{a,c} ±0,85	14,79 ^b ±0,91	20,04 ^b ±1,15	0,83 ^a ±0,02
Vzorek č. 2	63,79 ^a ±1,19	15,90 ^{a,b,c} ±1,33	18,17 ^{a,b,c} ±1,28	24,15 ^{a,b,c} ±1,83	0,85 ^{a,b,c} ±0,01
Vzorek č. 3	59,25 ^{a,b} ±0,85	13,59 ^b ±0,37	13,20 ^{a,b,c} ±0,55	18,95 ^{a,b,c} ±0,51	0,77 ^{a,b} ±0,02
Vzorek č. 4	64,17 ^{b,c} ±0,84	18,00 ^{a,b,c} ±0,51	20,00 ^{a,b,c} ±0,59	26,91 ^{b,c} ±0,71	0,84 ^{b,c} ±0,01
Vzorek č. 5	66,20 ^{a,b} ±1,14	14,87 ^{a,b,c} ±0,63	14,13 ^{a,c} ±0,67	20,51 ^{a,c} ±0,91	0,76 ^{a,c} ±0,00

Vysvětlivky: a-c p<0,05

Tabulka 3: Výsledné hodnoty F parametrů barvy špekáčků a kabanosů

	Špekáčky		Kabanosy	
	F	F _{krit}	F	F _{krit}
L*	21,51	2,579	50,08	2,579
a*	40,22		53,16	
b*	75,11		117,45	
C*	49,16		87,80	
h°	135,28		67,40	

V tabulce 3 jsou uvedeny hodnoty F parametrů barvy špekáčků a kabanosů, které jsou ve všech případech vyšší než kritická hodnota, což poukazuje na průkazné rozdíly.

Na změnu barvy může mít vliv tepelné opracování masných výrobků, případně další suroviny přidávané do masného výrobku. Chmiel (2017) uvádí, že ke změně barvy masných výrobků dochází v souvislosti se sušením a s tím spojenou relativní vlhkostí vzduchu, při které bylo sušení prováděno.

Sousa (2016) ve svém výzkumu zjišťovala, zda má záměna vepřového tuku za hydrolyzovaný kolagen vliv na barvu frankfurtských párků. Pro měření byly připraveny 4 vzorky frankfurtských párků. Jeden vzorek byl kontrolní a další tři měli rozdílný obsah kolagenu (25%, 50%, 75%). Měření bylo prováděno na vnitřním povrchu podélně rozřezaných párků na třech náhodně zvolených místech. Vzorky

připravené s hlavním obsahem hydrolyzovaného kolagenu (75%) vykazovaly nejvyšší hodnoty parametru b^* , což mohlo být výsledkem vyšší intenzity žluté barvy v hydrolyzovaném kolagenu ve srovnání s vepřovým tukem.

Jin (2017) ve své studii uvádí, že na barvu masných výrobků může mít vliv přídavek surimi nebo také podmínky sušení během skladování v chladu.

Závěr

Výsledné hodnoty poukazují na statisticky významný rozdíl u parametrů a^* , b^* , C^* u špekáčků a kabanosů mezi nejvyššími a nejnižšími hodnotami (mezi různými výrobci). U ostatních parametrů barvy byl zjištěn statisticky nevýznamný rozdíl. Bylo zjištěno, že barva masných výrobků je závislá na jeho struktuře. Množství a velikost tukových částí špekáčků ovlivňuje zejména rozmezí mezi červenou a zelenou barvou, které charakterizuje parametr a^* .

Sledování barvy masných výrobků je důležité. Barvu masných výrobků totiž docela výrazně ovlivňuje přídavek dusitanů, jehož obsah je podmíněný legislativou.

Literatura

Seznam použité literatury a citovaných zdrojů je k dispozici u autora.

Kontaktní adresa

Ing. Jana Doležalová, Ph.D.

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie

Ústav gastronomie

Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

email: dolezalovaj@vfu.cz

Detekce *Staphylococcus aureus* v provozovnách stravovacích služeb se zaměřením na enterotoxigenní potenciál
Detection of Staphylococcus aureus in catering establishments focusing on its enterotoxigenic potential

Dorotíková, K., Bogdanovičová, K., Kameník, J.

Ústav gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Brno, Česká republika

Souhrn

Cílem studie bylo sledování a zhodnocení hygienické úrovně 9 zařízení společného stravování v České republice se zaměřením na výskyt a enterotoxigenní potenciál bakterií *Staphylococcus aureus*. Do vzorkování bylo zahrnuto 5 kantýn, 3 školní jídelny a 1 hotelová restaurace. Celkem bylo v období od dubna 2016 do dubna roku 2017 odebráno 381 vzorků, z toho 250 vzorků pocházelo z prostředí provozoven a 131 vzorků bylo získáno z rukou pracovníků. V rámci studie byla za pomoci fenotypové identifikace a genotypové identifikace provedené metodou polymerázové řetězové reakce zjištěna přítomnost *S. aureus* v 70 vzorcích (18,4 %; 20,6 % ruce pracovníků, 17,2 % prostředí provozovny). Geny pro produkci enterotoxinů se u izolátů *S. aureus* vyskytovaly v 58,6 % případů (70,4 % ruce pracovníků, 51,2 % prostředí provozovny). Nejvyšší záchyt byl zaznamenán v přítomnosti kombinace genů kódujících produkci enterotoxinů G a I (27,1 %). Nejnižší frekvence výskytu *S. aureus* byla s ohledem na typ provozovny zaznamenána v kantýnách (14 %; oproti 23,4 % ve školních jídelnách a 29 % v hotelové restauraci). Nejvyšší enterotoxigenní potenciál byl potvrzen u bakterií *S. aureus* pocházejících ze vzorků odebraných v zařízeních typu školních jídelen (80 %). Gen *mecA* nebyl detekován v žádném z izolátů *S. aureus*. Mikrobiální stav provozoven společného stravování lze se zaměřením na výskyt potenciálně enterotoxigenních bakterií *S. aureus* považovat minimálně za riskantní. Vzhledem k možnému nebezpečí vzniku alimentárních intoxikací je monitorování výskytu potenciálně enterotoxigenních bakterií *S. aureus* v gastronomických zařízeních prvním důležitým krokem pro zajištění kvality a bezpečnosti podávaných pokrmů.

Abstract

The object of this study was monitoring and evaluation of hygiene level in nine catering facilities in the Czech Republic, focusing on presence and enterotoxigenic potential of *Staphylococcus aureus* bacteria. There were five public canteens, three school canteens and one hotel restaurant included in the sampling. In the period of time from April 2016 to April 2017, 381 samples were taken, 250 of them being from the catering premises and 131 samples were obtained from the hands of food handlers. The study used phenotypic identification and genotypic identification employed by a polymerase chain reaction method and detected presence of *S. aureus* in 70 samples (18.4 %; 20.6 % on the hands of food handlers, 17.2 % at the environment of catering premises). Genes for enterotoxin production in *S. aureus* isolates were found in 58.6 % of samples (70.4 % on hands of food handlers, 51.2 % in the establishment environment). The highest detection was recorded in presence of combination of genes encoding G and I enterotoxin production (27.1 %). The lowest presence frequency of *S. aureus* focusing on the catering facility type was detected in the public canteens (14.0 %, compared with 23.4 % in the school canteens

and 29.0 % in the hotel restaurant). The highest enterotoxigenic potential was confirmed at *S. aureus* bacteria coming from the school canteen samples (80 %). Gene *mecA* was not detected in any of *S. aureus* isolates. Microbial condition of catering facilities can be accounted at least risky, considering the presence of potentially enterotoxigenic *S. aureus* bacteria. Due to possible danger of alimentary intoxication, monitoring of potentially enterotoxigenic *S. aureus* bacteria in catering facilities is the first step to ensure quality and safety of the meals being served.

Klíčová slova: *stravovací zařízení, Staphylococcus aureus, pracovníci v potravinářství, bezpečnost potravin, geny kódující stafylokokové enterotoxiny*

Úvod

Dle zprávy Evropského úřadu pro bezpečnost potravin mají dominující roli ve vzniku a šíření hromadných onemocnění z potravin provozovny stravovacích služeb (EFSA, 2017). Ty zahrnují restaurace, kantýny, školní jídelny a další zařízení podobného typu. Hned druhý největší podíl na vypuknutí ohnisek alimentárních nálezů má, po bakteriálních původcích, skupina bakteriálních toxinů, která zahrnuje také enterotoxiny produkované bakterií *Staphylococcus aureus* (CDC, 2017; EFSA, 2017). Stafylokoková otrava potravinami je jednou z nejběžnějších příčin vzniku alimentární nákazy na celém světě (Kadariya *et al.*, 2014). Vzniká v důsledku požití potravin, ve které došlo k vyprodukování dostatečného množství stafylokokových enterotoxinů. Jelikož se jedná o tepelně stabilní proteiny, mohou být v potravinách přítomny i po jejich tepelném ošetření.

Zvyšování míry rizika z přítomnosti mikroorganismů v pokrmech si vynucuje důkladné zhodnocení jejich výskytu v zařízeních, která jsou z pohledu ohrožení obyvatel aktuálně nejzávažnější. Cílem studie bylo proto zhodnocení míry mikrobiální kontaminace provozoven stravovacích služeb nacházejících se na území České republiky se zaměřením na bakterii *S. aureus* a určení výše rizika konzumace pokrmů v těchto provozovnách z hlediska možného vzniku stafylokokové enterotoxikózy.

Materiál a metodika

Pro zhodnocení výskytu a enterotoxigenního potenciálu druhu *S. aureus* v prostředí provozoven stravovacích služeb bylo odebráno 381 vzorků, které pocházely z 9 různých provozů (5 kantýn, 3 školní jídelny, 1 hotelová restaurace). Celkem bylo odebráno 250 vzorků z prostředí (stěry z pracovních ploch, zařízení, madel, dřezů, vah atd.) a 131 vzorků z rukou pracovníků provozoven. Stěry z prostředí byly prováděny pomocí sterilní abrazivní houbičky z plochy přibližně 100 cm², v případě ovládacích prvků z celé plochy tohoto prvku. Stěry z rukou metodou tzv. glove-juice testu (Waterman *et al.*, 2006). Odběr vzorků probíhal od dubna roku 2016 do dubna roku 2017.

Vzorky z provozoven byly vyšetřeny na přítomnost bakterie *S. aureus* dle ČSN EN ISO 6888-1. Genotypová identifikace suspektních izolátů *S. aureus* byla provedena metodou polymerázové řetězové reakce (PCR) detekcí specifického úseku SA442 (Martineau *et al.*, 1998). Současně byl sledován výskyt *mecA* genu, který kóduje rezistenci k methicilinu (Stegger *et al.*, 2012). Dále byla zjišťována přítomnost genů kódujících tvorbu stafylokokových enterotoxinů, a to pomocí multiplex PCR s možností detekce genů *sea - sej* (Monday a Bohach, 1999).

Výsledky a diskuze

V rámci této práce byla potvrzena přítomnost bakterií *S. aureus* u 70 (18,4 %) vzorků, tj. téměř v každém pátém z odebraných vzorků. Enterotoxigenní potenciál byl zjištěn u 41 (58,6 %) izolátů *S. aureus*. Ve výskytu *S. aureus*, stejně jako v enterotoxigenním potenciálu těchto bakterií, byly v závislosti na typu provozovny, ze které vzorky pocházely, zaznamenány velké rozdíly. Nejnižší frekvence výskytu bakterie *S. aureus* byla zaznamenána v kantýnách (14 %), ve školní jídelně bylo na přítomnost *S. aureus* pozitivních 23,4 % vzorků. Nejvyšší záchytnost pak byla v hotelové restauraci (29 %). V počtu izolátů *S. aureus*, u kterých byla potvrzena přítomnost genů kódujících stafylokokové enterotoxiny, se na první místo řadily provozovny typu školních jídelen. Enterotoxigenní potenciál byl prokázán u 80 % izolátů pocházejících ze zařízení tohoto typu. Tato zjištění jsou poměrně znepokojující, neboť děti patří do skupiny jedinců, která je ke vzniku stafylokokové gastroenteritidy náchylnější.

Bakterie *S. aureus* byla nepatrně častěji detekována ve vzorcích pocházejících z rukou pracovníků (20,6 %) než z prostředí provozoven (17,2 %). Celkem bylo 70,4 % izolátů *S. aureus* z rukou pracovníků a 51,2 % izolátů z prostředí provozovny shledáno pozitivními na přítomnost genů pro produkci stafylokokových enterotoxinů. Enterotoxigenní potenciál bakterií *S. aureus* izolovaných z rukou osob zpracovávajících potraviny tak byl téměř o 20 % větší než těch izolovaných z pracovních ploch a zařízení. Z hlediska možného vzniku onemocnění z potravin vlivem stafylokokových enterotoxinů spočívá větší hrozba kontaminace pokrmů bakteriemi *S. aureus* v rukou pracovníků, nežli v samotném prostředí provozoven.

Za účelem zjištění zastoupení genů pro produkci tzv. klasických stafylokokových enterotoxinů (SEA – SEE) a „nových“ stafylokokových enterotoxinů byla u izolátů získaných z prostředí provozoven a z rukou pracovníků provedena detekce genů kódujících enterotoxiny SEA – SEJ. Nejčastěji detekované geny pro produkci klasických enterotoxinů byly zaznamenány u izolátů s možností produkce enterotoxinu B (5,7 %; z toho prostředí provozovny 4,7 %, ruce pracovníků 7,4 %). Největší záchyt však byl zaznamenán v přítomnosti genů pro produkci enterotoxinů G a I (27,1 %; z toho prostředí provozovny 27,9 %, ruce pracovníků 25,9 %), jež náleží do skupiny tzv. nových stafylokokových enterotoxinů. Geny *seg* a *sei* se u izolátů *S. aureus* nacházejí velmi frekventovaně, což je způsobeno tím, že se vyskytují společně ve shluku genů zvaném enterotoxin gene cluster *egc1*. *Egc1* je mezi *S. aureus* široce distribuován (Omoe *et al.*, 2002). Omoe *et al.* (2002) prokázali, že většina izolátů nesoucích tyto geny neprodukuje detekovatelné množství SEG a SEI, jejich role při stafylokokové otravě je dle Bystron *et al.* (2010) zanedbatelná. Nicméně, v roce 2016 vypuklo v domově pro seniory ve městě Osaka v Japonsku hromadné onemocnění z potravin. Bylo zjištěno, že otrava byla způsobena některými nově popsányými stafylokokovými enterotoxiny (SEs) (Umeda *et al.*, 2017). V námi prováděném výzkumu bylo potvrzeno, že geny kódující nové SEs jsou u izolátů *S. aureus* hojně zastoupeny. Je prozatím otázkou, v jaké míře se tyto geny exprimují a jaká je jejich role v patogenezi onemocnění (stafylokokové enterotoxikózy). K vysvětlení úlohy SEs nového typu v otravě potravin je zapotřebí dalších výzkumů a vývoje spolehlivých metod k jejich detekci.

Závěr

Monitoring mikrobiologické situace je prvotním a zároveň rozhodujícím krokem k ochraně spotřebitele před vznikem onemocnění přenášených potravinami. Výsledky

této studie poskytly provozovatelům informace o hygienické úrovni jejich zařízení a upozornily na mezery v dodržování některých principů správné výrobní a hygienické praxe. Odstranění těchto nedostatků zajistí nebo přinejmenším zvýší bezpečnost potravin a pokrmů podávaných v rámci těchto provozoven a zároveň sníží riziko vzniku stafylokokové enterotoxikózy. Z tohoto pohledu je nezbytné, aby se bezpečnost potravin stala prioritou každého jednoho pracovníka činného při výrobě a uvádění pokrmů do oběhu.

Literatura

- Bystroń, J., M. Podkowik, T. Piasecki, A. Wieliczko, J. Molenda a J. Bania, 2010. Genotypes and enterotoxin gene content of *S. aureus* isolates from poultry. *Veterinary Microbiology*. 144(3-4), 498-501. DOI: 10.1016/j.vetmic.2010.01.029.
- CDC, 2017. Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States, 2015. Annual Report. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC, 2017. Available at: <https://www.cdc.gov/foodsafety/pdfs/foodborne-outbreaks-annual-report-2015-508.pdf>
- ČSN EN ISO 6888-1 (560089), 2000. Microbiology of food and animal feeding stuffs, Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. Praha
- EFSA, 2017. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal*. 15(12): 5077.
- Kadariya, J., T. C. Smith a D. Thapaliya, 2014. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health. *BioMed Research International*. 9. DOI: 10.1155/2014/827965. ISBN 10.1155/2014/827965.
- Martineau, F., F.J. Picard, P.H. Roy, M. Quелlette a M.G. Bergeron, 1998. Species - Specific and Ubiquitous DNA - Based Assays for Rapid Identification of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*. 36, 618-623.
- Monday, S.R. a G. Bohach, 1999. Use of multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in staphylococcal isolates. *Journal of Clinical Microbiology*. 37, 3411-3414.
- Omoe, K., M. Ishikawa, Y. Shimoda, D.L. Hu, S. Ueda a K. Shiganawa, 2002. Detection of *seg*, *seh*, and *sei* genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates Harboring *seg*, *seh*, or *sei* genes. *Journal of Clinical Microbiology*. 40(3), 857-862.
- Stegger, M., P. S. Andersen, A. Kearns, *et al.*, 2012. Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecALGA251*. *Clinical Microbiology and Infection*. 18(4), 395-400. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03715.x>.
- Umeda, K., H. Nakamura, K. Yamamoto, N. Nishina, K. Yasufuku, *et al.*, 2017. Molecular and epidemiological characterization of staphylococcal foodborne outbreak of *Staphylococcus aureus* harboring *seg*, *sei*, *sem*, *sen*, *seo* and *selu* genes without production of classical enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology*. 256, 30-35
- Waterman, T.R., D.D. Smeak, J. Kowalski a E.M. Hade, 2006. Comparison of bacterial counts in glove juice of surgeons wearing smooth band rings versus those without rings. *American Journal of Infection Control*. 34(7), 421-425.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem IGA 233/2018//FVHE Veterinární a farmaceutické univerzity Brno.

Kontaktní adresa

Mgr. Kateřina Dorotíková, VFU, FVHE Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, e-mail: katerina.dorotikova@gnj.cz

**Porovnanie citlivosti biočipu a PCR Real-Time pri identifikácii
živočíšnych zložiek potravín**
*Comparison of sensitivity biochip and PCR Real-Time to identify animal
species in food*

Drdolová, Z., Golian, J.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

Citlivosť detekčných metód zohráva kľúčovú úlohu pri identifikácii falšovania potravín a zisťovaní stavu autenticity potravín. Primárnym cieľom v oblasti vysledovateľnosti je autentifikácia prítomnosti rôznych druhov mias. DNA orientované analýzy sú zamerané hlavne na využitie PCR metód pre amplifikáciu špecifického fragmentu. Cieľom tejto štúdie bola identifikácia živočíšnych druhov v zmesi v rôznych pomeroch, ktoré boli laboratórne pripravené. Analýzu sme vyhotovili pomocou dvoch analytických nástrojov a výsledky porovnali. Prvotným nástrojom na určenie mäsového zloženia bol LCD čip Meat 5.0. Druhou zvolenou technikou pre analyzovanú pripravenú koncentračnú škálu vzoriek bola metóda PCR Real-Time, innuDETECT. Súprava PCR Real-Time pri testovaní nepreukázala dostatočnú spoľahlivosť. LCD čip Meat 5.0 preukázal vysokú citlivosť a opakovateľnosť.

Abstract

The sensitivity of decoding methods plays a key role in identifying food counterfeiting and determining food authenticity. The primary objective of traceability is to authenticate the presence of various species of meat. DNA-directed analyzes are mainly focused on the use of PCR methods for amplification of a specific fragment. The aim of this study was to identify the animal species in the mixture in different ratios that were laboratory prepared. We analyzed using two analytical tools and compared the results. The Meat 5.0 LCD Chip was the primary tool for determining meat composition. The second technique chosen for analyzing the prepared concentration range of samples was the Real-Time PCR method, innuDETECT. The Real-Time PCR kit did not show sufficient reliability. The Meat 5.0 LCD chip has proven high sensitivity and repeatability.

Keywords: *meat, PRC RealTime, Microarray Meat 5.0, pork*

Úvod

Detekcia falšovania je náročným odvetvím v potravinárstve. Aktívny vývoj v oblasti prídavných látok, rovnako tak nové potraviny, ktoré podľahli výrazným zmenám potravinovej matrice zvyšujú nároky na presnosť a spoľahlivosť analytických metód založených na identifikácii senzorických, anatomických, morfológických a histologických rozdielov pri detekcii falšovania (Yosef et al., 2014).

Testovacie techniky sa stávajú rýchlejšími, presnejšími, citlivejšími, sú užívateľsky prístupnejšie, schopné detekcie viac ako jedného druhu v jednej reakcii (İlhak a Arslan 2007).

Expanzia dopytu mäsa by mohla byť sprevádzaná mnohopočetnými obchodnými podvodmi. Spotrebiteľia chcú byť chránení pred klamlivo označenými potravinami, ktoré obsahujú neznáme, či menej cenené mäsové druhy (Giaretta et al., 2013).

Rýchly a spoľahlivý detekčný systém je nevyhnutný pre výkon kontroly potravín a ochranu dôvery spotrebiteľov (Azuka et al., 2011).

V záujme verejného zdravia, obchodnej ochrany a akceptácie náboženských zvykov týkajúcich sa predovšetkým absencie bravčového mäsa v jedálničkoch židov a moslimov je potrebné aplikovať spoľahlivé a rýchle metódy na identifikáciu mäsa rôznych druhov zvierat vo výrobkoch spracovaných rôznymi technologickými operáciami (Sun, 2008, Giaretta et al., 2013).

Boli navrhnuté rôzne analytické techniky, ktoré identifikujú tieto mäsa, a to buď samostatne, alebo v zmesi (Hsieh, 2006).

Pokroky v DNA technológii viedli k rýchlemu rozvoju alternatívnych prístupov na identifikáciu druhov (Rodriguez et al., 2004).

U alternatívnych, druhovo špecifických PCR bolo preukázané, že sú vhodné pre detekciu falšovania mäsa, pretože využívajú špecifické cieľové sekvencie, ktoré môžu byť detegované ako sekvencie rôzneho pôvodu, bez nutnosti ďalšieho sekvenovania alebo digescie PCR produktov pomocou reštrikčných enzýmov (Rodrigues et al., 2004, Kesmena et al., 2007).

Overenie deklarovaných komponentov v mäsových výrobkoch je základnou úlohou kontroly potravín po celom svete. K dnešnému dňu, ELISA a druhovo špecifické PCR sú dva bežne používané analytické nástroje používané v mnohých autorizovaných laboratóriách kontroly potravín. Tieto metódy však neumožňujú súčasnú detekciu všetkých živočíšnych druhov prítomných vo vzorke mäsa. Navyše detekcia neohlásených zložiek vzniknutých pri neočakávanom znečistení alebo úmyselné falšovanie mäsových výrobkov vyžaduje ďalšie spracovanie vzoriek, čo vedie k zvýšeniu nákladov. Analýza pomocou DNA Microarray umožňuje súčasne spracovanie viacerých mäsových výrobkov, zatiaľ čo súčasne generuje výsledky pre detekciu všetkých druhov zvierat prítomných v mäsových výrobkoch, je teda veľmi žiaduca (Azuka et al., 2011).

Materiál a metodika

Naša štúdia bola zameraná na identifikáciu živočíšnych druhov v zmesi v rôznych pomeroch, ktoré boli laboratórne pripravené. Analýzu sme vyhotovili pomocou dvoch analytických nástrojov a výsledky porovnali. Prvotným nástrojom na určenie mäsového zloženia bol LCD čip Meat 5.0. Druhou zvolenou technikou pre analyzovanú pripravenú koncentračnú škálu vzoriek bola metóda PCR Real-Time, innuDETECT Turkey, innuDETECT Pork a innuDETECT Chicken PCR Real-Time Kit, keďže sme sa zamerali na najpredávanejšie druhy mäsa na Slovenskom trhu. DNA bola extrahovaná z mäsových zmesí využitím komerčného kitu na izoláciu DNA z potravín innuPREP DNA Mini Kit podľa inštrukcií výrobcu. Izolačný kit nám poskytoval dostatočnú koncentráciu DNA potrebnú pre analýzy. Prvá časť štúdie bola vypracovaná prostredníctvom LCD čipu Meat 5.0 a výsledky analýzy porovnané s druhou sériou analýz vykonaných pomocou súpravy innuDETECT podľa logickej nadväznosti a druhej príslušnosti. Každá z analýz bola opakovaná dvakrát.

Výsledky a diskusia

Vylepšením konvenčných metód PCR je použitie PCR v reálnom čase, ktorá kombinuje druhovo špecifické primeri a sondy pre jedinečnú detekciu druhov zvierat v jednej reakcii. Real-Time PCR reakcie boli úspešne použité simultánne na detekciu až sedem

druhov zvierat vo vzorke mäsa a boli inšpiráciou pre vývoj Microarray technológie (Köppel et al., 2009, Azuka et al., 2011).

DNA Microarray je čoraz viac používanou technikou v štúdiách zaoberajúcich sa bezpečnosťou potravín (Bottero a Dalmaso, 2010). Detekčné systémy na báze DNA sa stávajú stále viac populárnymi. Zreteľná výhoda detekcie na báze DNA spočíva v zvýšení špecifickosti a stability DNA pri testovaní vzoriek priemyselne spracovaných potravín.

Microarray technológia poskytuje možnosť vyhotovenia rýchleho skríningu v bežnom analytickom laboratóriu. Obe metódy ponúkajú jednoduchú, robustnú a rýchlu platformu pre simultánnu detekciu živočíšnych druhov vo vzorkách mäsa. DNA čip ponúka viacero výhod, umožňuje identifikáciu neohlásených a neznámych živočíšnych druhov prítomných vo vzorke mäsa, vpravených do výrobku neúmyselnou kontamináciou alebo úmyselným falšovaním mäsových výrobkov (Azuka et al., 2011).

Tabuľka 1: Porovnanie výsledkov medzi DNA Microarray a Real Time PCR

Číslo vzorky	Popis vzorky	Chipron LCD Array Meat 5.0 Kit		innuDETECT PCR Real-Time Kit	
		Morčacie	Bravčové	Morčacie	Bravčové
1	100% Morčacie	+	-	+	-
2	100% Bravčové	-	+	-	+
3	90 % Bravčové, 10 % Morčacie	+	+	+	+
4	80 % Bravčové, 20 % Morčacie	+	+	+	+
5	70 % Bravčové, 30 % Morčacie	+	+	+	+
6	60 % Bravčové, 40 % Morčacie	+	+	+	+
7	50 % Bravčové, 50% Morčacie	+	+	+	+
8	45 % Bravčové, 55 % Morčacie	+	+	+	+
9	40 % Bravčové, 60 % Morčacie	+	+	+	+
10	35 % Bravčové, 65 % Morčacie	+	+	+	+
11	30 % Bravčové, 70 % Morčacie	+	+	+	+
12	25 % Bravčové, 75 % Morčacie	+	+	+	+
13	20 % Bravčové, 80 % Morčacie	+	+	+	+
14	15 % Bravčové, 85 % Morčacie	+	+	+	+
15	10 % Bravčové, 90 % Morčacie	+	+	+	+
16	5 % Bravčové, 95 % Morčacie	+	+	+	+
17	1% Bravčové, 99 Morčacie	+	+	+	+
18	0,5% Bravčové, 99,5 % Morčacie	+	+	+	+
19	0,1% Bravčové, 99,9 % Morčacie	+	-	+	-

Tabuľka 2: Porovnanie výsledkov medzi DNA Microarray a Real Time PCR

Číslo vzorky	Popis vzorky	Chipron LCD Array Meat 5.0 Kit		innuDETECT PCR Real-Time Kit	
		Kuracie	Bravčové	Kuracie	Bravčové
1	100% Kuracie	+	-	+	-
2	100% Bravčové	-	+	-	+
3	90 % Bravčové, 10 % Kuracie	+	+	+	+
4	80 % Bravčové, 20 % Kuracie	+	+	+	+
5	70 % Bravčové, 30 % Kuracie	+	+	+	+
6	60 % Bravčové, 40 % Kuracie	+	+	+	+
7	50 % Bravčové, 50% Kuracie	+	+	+	+
8	45 % Bravčové, 55 % Kuracie	+	+	+	+
9	40 % Bravčové, 60 % Kuracie	+	+	+	+
10	35 % Bravčové, 65 % Kuracie	+	+	+	+
11	30 % Bravčové, 70 % Kuracie	+	+	+	+
12	25 % Bravčové, 75 % Kuracie	+	+	+	+
13	20 % Bravčové, 80 % Kuracie	+	+	+	+
14	15 % Bravčové, 85 % Kuracie	+	+	+	+
15	10 % Bravčové, 90 % Kuracie	+	+	+	+
16	5 % Bravčové, 95 % Kuracie	+	+	+	+
17	1% Bravčové, 99 % Kuracie	+	+	+	-
18	0,5% Bravčové, 99,5 % Kuracie	+	+	+	-
19	0,1% Bravčové, 99,9 % Kuracie	+	-	+	-

V našej štúdií boli vyhotovené dve koncentračné škály s rôznymi percentuálnymi prímiesami mäsa. Všetky tri druhy mias zapojené do štúdie, morčacie, kuracie, bravčové boli zhodne identifikované oboma detekčnými nástrojmi, čím sa potvrdila schopnosť identifikácie prostredníctvom zvolených metód identifikácie a ich využiteľnosť pre ďalšie pokračovanie štúdie. Laboratórne boli pripravené dve zmesi mäsa v 18-tich rôznych percentuálnych pomeroch pridaného mäsa. Majoritnú zložku v prvej testovanej zmesi tvorilo morčacie mäso v druhej zmesi mäso kuracie. Do oboch zmesí sme zhodne pridávali bravčové mäso. Zmesi mias boli niekoľkonásobne homogenizované a premiešavané pre dobrú reprezentatívnosť vzorky obzvlášť pri veľmi malých prídavkoch, ktoré si vyžadovali obzvlášť vysokú presnosť a dôslednosť vzhľadom na náročnosť vyhotovenia.

Na vyhodnotenie porovnania citlivosti dvoch zvolených prístupov na identifikáciu bravčového mäsa sme vytvorili dve varianty binárnych zmesí. Prvý variant, kombinácia bravčového mäsa s morčacím mäsom pozostávajúca z osemnástich rôznych prídavkov bravčového mäsa poukazuje na zhodu vo výsledkoch po hranicu 0,5 % u oboch aplikovaných metód. Prídavok 0,1 % bravčového mäsa bol zaznamenaný len pomocou

LCD čip Meat 5.0. Súprava innuDETECT Pork Assay neumožnila identifikáciu bravčového mäsa v binárnej zmesi.

Druhý variant, kombinácia bravčového mäsa s kuracím mäsom pozostávajúca rovnako z osemnástich rôznych prídavkov bravčového mäsa poukazuje na zhodu vo výsledkoch po hranicu 5 % u oboch aplikovaných metód. Prídavok 0,1 %, 0,5 %, 1% bravčového mäsa bol zaznamenaný len pomocou LCD čip Meat 5.0. Súprava innuDETECT Pork Assay neumožnila identifikáciu bravčového mäsa v binárnej zmesi v žiadnom z opakovaní experimentu. Vo vyšších analyzovaných koncentráciách boli výsledky oboch zvolených prístupov zhodné a opakovateľné.

Záver

Pri prídavkoch mäsa bola v našej štúdií zistená citlivosť metódy MEAT 5.0 LCD Array 0,5 % na detekciu druhov prítomných vo vzorke. Zvolená metóda je vysoko efektívna pri analýze mäsa a mäsových výrobkov v tepelne opracovanej aj surovej podobe i keď je známe, že množstvo DNA extrahovanej v surových vzorkách je vyššie. Z našich výsledkov ďalej plynie, že využiteľnosť detekčnej súpravy innuDETECT Pork Assay pre malé množstvá prídavku mäsa je obmedzená a dané zistenia poskytujú priestor pre ďalšie skúmanie. Metódy založené na analýze DNA sa rýchlo vyvíjajú. Výsledky získané využitím technológie Microarray sú vysoko kvalitné a spoľahlivé. Analýza vyhotovená touto technológiou je nenáročná a poskytuje robustný dátový výstup pre nasledovné spracovanie dát.

Literatúra

- Azuka, N., Iwobi, I., Huber, I., Hauner, G., Miller, A., Busch, U. 2011. Biochip Technology for the Detection of Animal Species in Meat Products. In *Food Analytical Methods*, vol. 4, pp 389–398.
- Bottero, M. T., Dalmaso, A. 2010. Animal species identification in food products: Evolution of biomolecular methods. In *Vet J*, vol. 190, pp. 34–8.
- Giaretta, N., Antonella M. A., Di, G., Lipperta, M., Parente, A., Marob, A.D. 2013. Myoglobin as marker in meat adulteration: A UPLC method for determining the presence of pork meat in raw beef burger. In *Food Chemistry*, vol. 141, pp. 1814–1820.
- Hsieh, Y. H. P. 2006. Meat species identification. In *Handbook of food science, technology, and engineering*, vol. 1, pp. 6.
- İlhak, O. İ., Arslan, A. 2007. Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA yöntemiyle kanatlı etlerinde tür tayini. In *Erişim tarihi*, vol. 21, pp. 167–171.
- Kesmena, Z., Sahin, F., Yetima, H. 2007. PCR assay for the identification of animal species in cooked sausages. In *Meat Science*, vol. 77, pp. 649–653.
- Köppel, R., Zimmerli, F., Breitenmoser, A. 2009. Heptaplex real-time PCR for the identification and quantification of DNA from beef, pork, chicken, turkey, horse meat, sheep (mutton) and goat. In *Eur Food Res Technol.*, vol. 230, pp. 125–133.
- Rodriguez, M. A., García, T., González, I., Asensio, L., Hernández, P. E., Martín, R. 2004. PCR identification of beef, sheep, goat, and pork in raw and heat-treated meat mixtures. In *Journal of Food Protection*, vol. 67, pp. 172–177.
- Sun, D.W. 2008. Modern techniques for food authentication. In *Academic Press, Burlington*, vol. 1, pp. 223–225.

Yosef, T. A., et al. 2014. Food Forensics: Using DNA-Based Technology for the Detection of Animal Species in Meat Products. In *Nature and Science*, vol. 12, pp. 82-90.

Pod'akovanie

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

Kontaktná adresa

Ing. Zuzana Drdlová
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín,
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
e-mail: drdolova.zuzana@gmail.com

Sledovanie obsahu laktoferínu v surovom kravskom mlieku *Monitoring of Lactoferrin Content in Raw Cow Milk*

Ducková, V., Čanigová, M., Zajác, P., Kročko, M., Remeňová, Z.
Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU v Nitre

Súhrn

Laktoferín je glykoproteín primárneho imunitného systému cicavcov prítomný v mlieku a iných mukozálnych sekrétoch. Cieľom práce bolo zistiť obsah laktoferínu vo vzorkách surového kravského mlieka produkovaného na Slovensku. Vzorky mlieka sa získavali od 4 stredne veľkých mliekarenských podnikov a 4 malých družstevných mliekarní, v období január až jún 2018. Množstvo laktoferínu sa pohybovalo v rozsahu od 99,335 mg.L⁻¹ do 299,615 mg.L⁻¹ s priemernou hodnotou 127,110 mg.L⁻¹. Medzi vzorkami sa nezistili štatisticky významné rozdiely (P>0,05).

Abstract

Lactoferrin is a glycoprotein of the primary innate immune-defense system of mammals present in milk and other mucosal secretions. The aim of this work was to determinate of lactoferrin content in samples of raw cow milk produced in Slovakia. Samples of raw milk were taken from 4 medium size dairies and from 4 small size farm dairies in period of January to June 2018. Content of lactoferrin ranged from 99.335mg.L⁻¹ to 299.615mg.L⁻¹ with average value 127.110mg.L⁻¹. No statistical differences (P>0.05) were found between samples.

Kľúčové slová: *laktoferín, surové kravské mlieko*

Úvod

Mlieko obsahuje veľa biologicky aktívnych látok a je bohatým zdrojom hlavne bielkovinových frakcií. Obsah celkových bielkovín dosahuje v kravskom mlieku priemerne 3,2 %, pričom okolo 20 % predstavujú srvátkové bielkoviny. Medzi ne sa zaraďujú albumíny (napr. β-laktoglobulín, α-laktoalbumín, sérový albumín) ako aj bakteriostatické látky napr. imunoglobulíny, laktoferín, laktoperoxidáza alebo lyzozým. Tieto zložky mlieka pôsobia na tráviaci, imunitný, obehový a nervový systém a redukujú tak u ľudí riziko mnohých ochorení (Brodziak et al., 2015).

Laktoferín bol v roku 1960 takmer v rovnakom čase izolovaný z materského (hLf) (Groves, 1960) a kravského mlieka (bLf) (Montreuil et al., 1960).

Oba glykoproteíny sú monoméne, s molekulovou hmotnosťou okolo 80 kDa a pI 8,5 – 9. Laktoferín bol pôvodne pomenovaný ako laktotransferín, kvôli tomu, že je to mliečny glykoproteín, ktorý chelatuje železo. Táto bielkovina patrí do transferínovej rodiny, do ktorej patrí aj ovotransferín (vajička), sérový a lymfový transferín cicavcov; ale od ostatných členov tejto rodiny sa líši svojou vyššou afinitou k železu. Laktoferín je syntetizovaný mliečnou žľazou a hojne sa vyskytuje v kolostre a mlieku, preto sa predpokladá, že sa podieľa na počiatocnej ochrane novorodencov (Brock, 2002; Legrand et al., 2004, Kaminski et al., 2006).

Čo sa týka obsahu, materské mlieko je na laktoferín bohatšie (2,6 mg.ml⁻¹) v porovnaní s kravským mliekom (0,09 mg.ml⁻¹). Aminokyselinové sekvencie oboch proteínov sú približne na 70 % identické. Laktoferín je tiež prítomný vo viacerých tekutinách a výlučkoch ako sú slzy, sliny, povrch slizníc v respiračnom, močovo-pohlavnom

a tráviacom systéme, kde laktoferín prispieva k primárnej vrodenej imunite cicavcov, čo sa prejavuje antimikrobiálnou aktivitou voči mnohým patogénnym mikroorganizmom (Drago-Serrano et al., 2017).

Laktoferín pôsobí bakteriostaticky kvôli svojej schopnosti chelatovať železo, ale môže pôsobiť aj baktericídne pri interakcii s lipopolysacharidmi a porínmi u G^- baktérií alebo s kyselinou teikovou u G^+ baktérií. Tieto interakcie vedú k poškodeniu membrány a k usmrteniu baktérií. Okrem toho, ako sa potvrdilo v pokusoch, antibakteriálna aktivita laktoferínu je vysoko závislá na jeho elektrickom náboji, pretože prídavok kladných nábojov k laktoferínu prostredníctvom amidácie zvyšuje jeho antibakteriálne a antivirálné vlastnosti a naopak, prídavok záporných nábojov pri acylácii ich zruší (Pan et al., 2007). Laktoferín pôsobí multifunkčne. Okrem antimikrobiálnej aktivity pôsobí aj ako rastový faktor a stimuluje bunkovú proliferáciu a diferenciáciu (Legrand et al., 2008).

Najbohatším externým zdrojom laktoferínu je mlieko. Po konzumácii môže byť laktoferín enzymaticky štiepený pepsínom v žalúdku a trypsínom v tenkom čreve. Zatiaľ čo hLf je u dospelých úplne degradovaný, asi 60 % bLf je rezistentných voči proteolytickému pôsobeniu pepsínu (Troost et al., 2001). Zaujímavosťou oproti uvedenému je, že tráviaci trakt detí a dojčiat má relatívne vysoké pH a produkuje nízke hladiny pepsínu, čo umožňuje neškodný prechod hLf a bLf k epitelovým bunkám, čo môže byť nesmierne dôležité v danej fáze života (Lønnerdal, 2016).

Laktoferín pôsobí vo všeobecnosti ako antibakteriálna a antifungálna molekula, ktorá sa zapája do ochranných mechanizmov hostiteľa pri modulácii zápalového procesu (Farnaud a Evans, 2003). Preto obsah laktoferínu v kravskom mlieku môže mať potenciál ako indikátor prítomnosti mastitíd a môže byť použitý v programe chovu zvierat na zvýšenie presnosti výberu dojčíc s rezistenciou na mastitídy (Soyeurt et al., 2012).

Cieľom práce bolo zistiť obsah laktoferínu v surovom kravskom mlieku produkovanom na Slovensku.

Materiál a metodika

Vzorky surového kravského mlieka sa získavali od 4 stredne veľkých mliekarenských podnikov (A, B, C, D) a 4 malých družstevných mliekarní, resp. fariem (E, F, G, H). Vzorky mlieka sa odoberali raz za mesiac v období január až jún 2018. Vzorky sa do 24 hodín od odberu analyzovali na prístroji Bentech Dairy Spec (Bentley, Česká republika) FT IR spektroskopiou.

Výsledky a diskusia

Množstvo laktoferínu v jednotlivých vzorkách surového kravského mlieka podľa podnikov, z ktorých sa získali, sú uvedené v tabuľke č. 1. Množstvo laktoferínu sa pohybovalo v rozsahu od 99,335 mg.L⁻¹ do 299,615 mg.L⁻¹ s priemernou hodnotou 127,110 mg.L⁻¹. Ako vidieť v tabuľke, obsah laktoferínu vo vzorkách mlieka z malých podnikov je vyšší ako vo vzorkách mlieka zo stredne veľkých podnikov. Tento rozdiel je štatisticky nevýznamný ($P > 0,05$). Predpokladáme, že znížený obsah laktoferínu súvisí s dlhšou dobou medzi získaním mlieka a jeho spracovaním v stredných mliekarenských podnikoch. Je všeobecne známe, že laktoferín ako látka pôsobiaca v baktericídnej fáze mlieka sa postupne odbúrava.

Tabuľka 1: Množstvo laktoferínu (mg.L⁻¹) v surovom kravskom mlieku

mesiac	stredne veľké podniky				malé podniky			
	A	B	C	D	E	F	G	H
I.	137,485	134,460	134,655	-	-	-	-	-
II.	125,760	129,445	130,810	130,025	152,790	299,615	117,610	128,900
III.	113,465	106,395	103,580	118,075	129,940	-	109,300	109,225
IV.	114,385	106,315	118,090	139,115	139,180	-	99,335	116,145
V.	106,740	127,265	114,045	121,150	-	133,450	197,395	111,055
VI.	109,490	111,450	114,760	112,810	127,490	128,740	120,350	104,110
priemer	119,990				136,743			
min	103,580				99,335			
max	139,115				299,615			
s_x	10,8074				46,2927			

s_x - smerodajná odchýlka

Hodnoty laktoferínu stanovené v našich analyzovaných vzorkách mlieka sú v súlade s rozpätím (0,1 – 0,4 g.L⁻¹), ktoré uvádzajú Soyeurt et al. (2012) ako prirodzenú koncentráciu laktoferínu v mlieku zdravých dojníc, na rozdiel od vysokej koncentrácie (2,3 g.L⁻¹), ktorá môže indikovať klinickú alebo subklinickú mastitídu. Litwińczuk et al. (2011) hodnotili zmeny obsahu bielkovín a ich frakcií vrátane laktoferínu v kravskom mlieku vo vzťahu k počtu somatických buniek, ktoré sú indikátorom mastitíd. Medzi počtom somatických buniek a obsahom laktoferínu v mlieku stanovili korelačný koeficient $r = 0,652$ ($P < 0,001$). Nami stanovený korelačný koeficient medzi laktoferínom a počtom somatických buniek (výsledky neuvádzame) však dosiahol na rozdiel od spomínanej práce nízku hodnotu $r = 0,337$, čo môže zrejme súvisieť s nízkym počtom analyzovaných vzoriek ($n=40$). Z literárnych údajov vyplýva, že na obsah laktoferínu vplýva aj spôsob chovu dojníc. Štatisticky významné rozdiely ($P \leq 0,01$) v obsahu laktoferínu uvádzajú Brodziak et al. (2015) medzi vzorkami mlieka z intenzívneho chovu (109,05 mg.L⁻¹) a konvenčného chovu (123,05 mg.L⁻¹).

Záver

Stanovené hodnoty laktoferínu sú v súlade s prirodzeným rozpätím uvádzaným v mlieku zdravých dojníc bez mastitíd. Na druhej strane vyšší obsah laktoferínu v mlieku môže prispieť k výraznejšiemu bakteriostatickému efektu, čím by sa mohla ovplyvniť mikrobiologická kvalita mlieka.

Literatúra

- Brodziak, A. – Król, J. – Litwińczuk, Z. 2015. Whey protein content and fatty acid profile in milk of cows used in intensive and conventional production systems with regard to stage of lactation. In *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, vol. 39, 2015, p. 745-750.
- Brock, J. H. 2002. The physiology of lactoferrin. In *Biochem. Cell Biol.*, vol. 80, 2002, p.1-6.
- Drago-Serrano, M. E. – Campos-Rodríguez, R. – Carrero, J. C. - de la Garza, M. 2017. Lactoferrin: Balancing Ups nad Downs of Inflammation Due to Microbial Infections. In *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 18, 2017, 501 p. 25.
- Farnaud, S. – Evans, R. W. 2003. Lactoferrin – a multifunctional protein with antimicrobial properties. In *Molecular Immunology*, vol. 40, 2003, p. 395 – 405.

- Groves, M. L. Isolation of Red Protein from Milk 2. 1960, In *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 82, 1960, p. 3345-3350.
- Kaminski, S. – Olenski, K. – Brym, P. – Malewski, T. – Sazanov, A. A. 2006. Single nucleotide polymorphism in the promoter region of the lactoferrin gene and its associations with milk performance traits in Polish Holstein-Friesian cows. In *Russ. J. Genet.*, vol. 42, 2006, p. 924-927.
- Litwińczuk, Z. – Król, J. – Brodziak, A. – Barłowska, J. 2011. Changes of protein content and its fractions in bovine milk from different breeds subject to somatic cell count. In *Journal of Dairy Science*, vol. 94, 2011, no. 2, p. 684-691.
- Legrand, D. – Ellass, E. – Pierce, A. – Mazurier, J. 2004. Lactoferrin and host defence: An overview of its immuno-modulating and anti-inflammatory properties. In *Biometals*, vol. 17, 2004, p. 225-229.
- Legrand, D. – Pierce, A. – Ellass, E. – Carpentier, M. – Mariller, C. – Mazurier, J. 2008. Advances in experimental medicine and biology. In *Adv Exp Med Biol.*, vol. 606, 2008, p. 163-194.
- Lønnerdal, B. 2016. Human Milk: Bioactive Proteins/Peptides and Functional Properties. In *Nestle Nutrition Institute Workshop Series; Nestec Ltd., Vevey / S. Kargen AG: Basel, Switzerland, 2016, vol. 86, pp. 97 -107.*
- Montreuil, J. – Tonnelat, J. – Mullet, S. 1960. Preparation and properties of lactosiderophilin (lactotransferrin) of human milk. In *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 45, 1960, p. 413-421.
- Pan, Y. – Wan, J. – Roginski, H. – Lee, A. – Shiell, B. – Michalski, W. P. – Coventry, M. J. 2007. Comparison of effect acylation and amidation on the antimicrobial and antiviral properties of lactoferrin. In *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 44, 2007, p. 229-234.
- Soyeurt, H. – Bastin, C. – Colinet, F. G. – Arnould, V. M. R. – Berry, D. P. – Wall, E. – Dehareng, F. – Nguyen, H. N. – Dardenne, P. – Schefers, J. – Vandenplas, J. – Weigel, K. – Coffey, M. – Théron, L. – Detilleux, J. – Reding, E. – Gengler, E. – McParland, S. 2012. Mid-infrared prediction of lactoferrin content in bovine milk: potential indicator of mastitis. In *Animal*, vol. 6, 2012, no. 11, p. 1830-1838.
- Troost, F. J. – Steijns, J. – Saris, W. H. – Brummer, R. J. 2001. Gastric digestion of bovine lactoferrin in vivo in adults. In *J. Nutr.*, vol. 131, 2001, p. 2101 – 2104.

Pod'akovanie

Práca je súčasťou výskumného projektu APVV-16-1244 „Kvalitatívne faktory ovplyvňujúce výrobu a konzumáciu mlieka a syrov“.

Kontaktná adresa

Ing. Viera Ducková, PhD.

SPU v Nitre, Fakulta biotechnológie a potravinárstva

Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov

Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

e-mail: viera.duckova@uniag.sk

Kvalita a bezpečnosť surového mlieka ako vstupnej suroviny pre výrobu syrov

Quality and safety of raw milk as the material for cheese making

Dudriková, E.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Cieľom príspevku bolo popísať požiadavky na kvalitu a bezpečnosť surového mlieka ako vstupnej suroviny pre výrobu syrov. Pozornosť je zameraná na požiadavky, ktoré sú kladené na surové mlieko spracovávané na syry pre výživu ľudí a venuje sa nielen kvalitatívnym kritériám stanovených platnou legislatívou pre mlieko: CPM, PSB, RIL, ale aj doplnkovým požiadavkám na surové mlieko, ako je počet koliformných baktérií, počet psychrotrofných mikroorganizmov a počet spórotvorných anaeróbných baktérií v 0,1 ml mlieka. Významný v mlieku je aj obsah bielkovín, tuku a vápnika určeného pre výrobu syrov. Príspevok sa venuje aj faktorom, ktoré ovplyvňujú kvalitu mlieka: plemeno, štádium laktácie, vek dojníc, výživa, manažment chovu dojníc a zdravotný stav mliečnej žľazy. Uvedená je aj problematika možného vplyvu pohlavia novonarodených teliat na kvantitu základných zložiek mlieka, najmä na obsah bielkovín a tuku.

Abstract

The goal of the article was to describe the requirements on the quality and safety of raw milk as the raw material for cheese making. The attention is directed onto the requirements given for the raw milk, such as total bacteria count, somatic cell count, residues, and those criteria such as count of coliforms, psychrotrophic microorganisms, count of anaerobic spore-forming bacteria in 0.1 ml of milk. The most important is also the content of protein, fat and calcium in milk used for the cheese production. The attention of article is aimed also on the factors influenced the quality of milk: breed, lactation period, age of the cows, nutrition, management and health of the mammary gland. Introduced is also the problems of the possible influence on to differences of macronutrients in milk according to gender of offspring.

Kľúčové slová: *mlieko, kvalita, bezpečnosť, syry*

Úvod

Surové mlieko predstavuje významnú surovinu pre mliekarský priemysel, nakoľko je ho možné spracovať na veľmi širokú škálu finálnych výrobkov. Mlieko a mliečne výrobky predstavujú kľúčovú komoditu, ktorá sa v rozhodujúcej miere uplatňuje pri zabezpečovaní správnej výživy obyvateľstva (Dudriková a Pažáková, 2017). Kvalita mlieka musí byť taká, aby spĺňala požiadavky spotrebiteľov i štátnych orgánov kontroly. Medzi problémy, ktoré možno spájať s kvalitou a zdravotnou bezchybnosťou mlieka možno zaradiť mikrobiálnu kontamináciu mlieka, prestup prirodzených toxických látok z krmív, aplikáciu veterinárnych liečiv, najmä antibiotík, s čím súvisí ich následná prítomnosť vo forme rezíduí farmakologicky účinných látok a ich metabolitov v mlieku. Významný je aj obsah základných zložiek mlieka, najmä bielkovín a tuku, ale aj minerálnych látok, vitamínov, atď. S tým súvisia aj senzorické a fyzikálno-chemické vlastnosti mlieka a mliečnych výrobkov .

Vychádzajúc zo zdravotných požiadaviek na produkciu surového mlieka a mledziva (nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004), mlieko musí pochádzať od zvierat, ktoré: (a) neprejavujú žiadne klinické príznaky infekčných chorôb prenosných mliekom alebo mledzivom na ľudí, (b) ktoré sú v dobrom zdravotnom stave, neprejavujú žiadne príznaky chorôb, ktoré môžu mať za následok kontamináciu mlieka a mledziva, a najmä netrpia žiadnymi infekciami pohlavného ústrojenstva s výtokom, ani enteritídou s hnačkou a horúčkou alebo rozpoznateľným zápalom vemena, (c) ktoré nemajú žiadne poranenia vemena, ktoré by mohli ovplyvniť mlieko a mledzivo, (d) ktorým neboli podané žiadne nepovolené látky alebo produkty alebo ktoré neboli podrobené nezákonnému ošetrovaniu (smernica 96/23/ES) a (e) ktorým boli po podaní povolených produktov alebo látok dodržané ochranné lehoty predpísané pre tieto produkty alebo látky. S tým sú spojené požiadavky, ktoré sa týkajú teploty mlieka po nadojení, ktoré sa musí ihneď po nadojení uchovávať na čistom mieste tak, aby sa zabránilo jeho kontaminácii, takže sa mlieko musí ihneď schladiť na teplotu najviac 8 °C, ak sa vykonáva každodenný zber, alebo najviac na teplotu 6 °C, ak sa nezberá denne. Pri zvoze mlieka do mliekare, jeho teplota nesmie byť vyššia ako 10 °C. Surové kravské mlieko musí spĺňať nasledujúce kritériá:

- Celkový počet mikroorganizmov (CPM) pri 30 °C v 1 cm³ 100 000 najviac (kľzavý geometrický priemer hodnôt za obdobie dvoch mesiacov pri najmenej dvoch vzorkách za mesiac.
- Počet somatických buniek (PSB) v 1 cm³ 400 000 najviac (kľzavý geometrický priemer hodnôt za obdobie troch mesiacov pri najmenej jednej vzorke za mesiac.
- Kombinovaný celkový obsah rezíduí antibiotických látok nesmie prekročiť maximálnu prípustnú hodnotu.

Z ďalších možných kritérií, ktoré by sa mohli uplatňovať pri kontrole kvality mlieka určeného výrobu syrov vychádzajú z doplnkových kritérií na surové mlieko uvedených v STN 57 0529 (1999). Táto technická norma nie je právne záväzná, ale uvádza aj také parametre pre kvalitu surového mlieka, ktoré by napomohli výrobcovi syrov pri zvyšovaní kvality vstupnej suroviny. Jedná sa najmä o mikrobiologickú kvalitu surového mlieka, ako je napr.: počet koliformných baktérií (najviac 1000.ml⁻¹), počet psychrotrofných mikroorganizmov (najviac 20 000.ml⁻¹) a počet spórotvorných anaeróbných baktérií v 0,1 ml (negatívny test). Tieto skupiny mikroorganizmov môžu vyvolať chyby syrov pri ich zrení v podobe skorého alebo neskorého durenia syrov, resp. rozklad mliečnej bielkoviny alebo tukov v prípade, že sa v surovom mlieku nachádza veľký počet psychrotrofných mikroorganizmov (nad 10⁶.ml⁻¹), ktoré produkujú termorezistentné lipolytické a/alebo aj proteolytické enzýmy.

Z ostatných kvalitatívnych parametrov mlieka určeného na výrobu syrov do úvahy prichádza aj obsah bielkovín (najmenej 32 g.l⁻¹), obsah tuku (najmenej 33 g.l⁻¹), obsah laktózy (najmenej 47 g.l⁻¹), obsah sušiny (najmenej 86 g.l⁻¹) a obsah vápnika (najmenej 1,2 g.l⁻¹).

Z hľadiska zabezpečenia bezpečnosti vstupnej suroviny je táto požiadavka významná najmä pri výrobe syrov z nepasterizovaného mlieka, kedy mlieko nepodlieha žiadnemu tepelnému ošetrovaniu vo forme pasterizácie a kedy v prípade nedodržania pH syrov pri zrecom procese (4,9 – 5,2 pH) by mohli v syroch prežívať aj také patogénne a toxinogénne mikroorganizmy, ako je *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* enteropatogénne *E. coli*, atď. V prípade výroby ovčích a kozích syrov zo surového mlieka nemožno opomenúť možnú prítomnosť vírusu kliešťovej

encefalitídy vo vstupnej surovine, kde jedinou možnou prevenciou je len tepelné ošetrenie mlieka pred spracovaním na syry.

Diskusia

Na kvalitu surového mlieka má vplyv celá škála faktorov, a to nielen medzi plemenami, ale aj v rámci plemena, rovnako ako aj štádium laktácie (O'Mahony, 1988), vek dojníc (McDonald et al., 2011), výživa (Linn, 1988). Významné sú aj environmentálne faktory, manažment chovu dojníc, ktoré ovplyvňujú tak kvantitu ako aj kvalitu mlieka (Collier et al. 2011; Fox et al., 2011; 2015) a zdravotný stav mliečnej žľazy – mastitída (Radostis et al., 2006; Risco a Mendez, 2007; Ouweltjes et al., 2007; Fox et al., 2015). V poslednom období sa v odbornej verejnosti začína objavovať aj diskusia o možnom vplyve pohlavia novonarodených jedincov na kvalitu mlieka (Altufaily, 2009; Hindde et al., 2014; Ilyasov, 2018). Príklad v obsahu bielkovín, tuku a laktózy v mlieku dojníc počas 10-mesačného sledovania v roku 2017 na základe narodených jedincov rôzneho pohlavia je uvedený v Tabuľke 1.

Tabuľka 1: Priemerný obsah bielkovín, tuku a laktózy v mlieku dojníc podľa pohlavia novonarodených teliat narodených v mesiaci január 2017 a sledovaný v mesiacoch február-október 2017 (n = 7)

mesiac	obsah bielkovín		obsah tuku		obsah laktózy	
	[%]					
	jalovica	býk	jalovica	býk	jalovica	býk
február	3,21	3,29	5,28	4,33	4,81	4,84
marec	3,03	3,22	3,18	3,31	4,91	4,77
apríl	3,11	3,40	4,15	3,82	4,93	4,66
máj	3,31	3,43	3,88	2,80	4,82	4,75
jún	3,32	3,37	4,20	4,20	4,77	4,67
júl	3,30	3,29	3,52	3,44	4,76	4,71
august	3,28	3,35	3,82	3,71	4,76	4,72
september	3,63	3,63	4,22	3,81	4,70	4,63
október	3,82	3,99	5,13	4,94	4,64	4,30
priemerná hodnota	3,34	3,44	4,15	3,82	4,79	4,67
smerodajná odchýlka	0,25	0,24	0,68	0,62	0,09	0,15

Záver

Z krátko prehl'adu vyplýva, že problematike kvality surového mlieka na výrobu syrov je potrebné venovať pozornosť aj v ďalšom období, nakoľko aj u slovenských spotrebiteľov v posledných rokoch stúpa obľuba konzumácie syrov. Každý spotrebiteľ si určite zaslúži kvalitný a bezpečný syr, ktorý okrem chuťového zážitku prinesie aj zdravotný benefit vo forme konzumácie kvalitných mliečnych bielkovín a mliečného tuku.

Literatúra

- Altufaily Yahia A. 2009. The effect of infant gender on the quality of breast milk. *Kufa Med. J.*, 12, 1.
- Collier, R.J., Romangnolo, D., Baumgard, L.H. 2011. Galactopoiesis, seasonal effects. Vol. 3. In: *Encyclopedia of Dairy Science*. Elsevier.
- Dudriková, E. a Pažáková, J. 2017. Laboratórne vyšetrenie mlieka a mliečnych výrobkov - Návody na praktické cvičenia. Manuál pre laboratórne vyšetrenie mlieka a mliečnych výrobkov. Košice, UVLF.
- Fox, P.F., McGuffey, R.K., Shirley, J.E., Cogan T.M. 2011. History of Dairy Sciences and Technology. Vol. 1. In: *Encyclopedia of Dairy Science*. Elsevier.
- Fox, P.F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P.L.H., O'Mahony, J.A. 2015. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. 2nd ed. Springer International Publishing.
- Hindde, K., Bradford, B.J., Calay, A.J. 2014. Holstein factor heifers, not bulls: raised milk production programme during pregnancy as a function of fetal sex. Plos one. Edited by Cameron, E.Z. dostupné na internete: <http://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.008619&type=printable> (stiahnuté: február 2014).
- Ilyasov, I. 2018. *Differences of macronutrients in milk according to gender of offspring*. Diploma thesis. Košice, UVMP (in English).
- Linn, J.G. 2008. Factors affecting the composition of milk from dairy cows. Designing Foods – NCBI Bookshelf. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK218193> (stiahnuté: marec 2018)
- McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D. Animal Nutrition. 7th Edition. Harlow: Pearson Education Limited. 2011.
- O'Mahony, F. 1988. *Rural Dairy Technology*.
- Ouweltjes, W., Beerda, B., Winding, J.J., Calus, M.P.L., Veerkamp, R.F. 2007. Effects of management and genetics on udder health and milk composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 90, 1, 229-238.
- Radostis, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D. 2006. *Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th. Edinburg London New York Oxford Philadelphia St. Louis Sydney Toronto: Elsevier.
- Risco, C.A., Melendez, P.R. 2007. *Monitoring Health Looking for sick cows*. John Wiley & Sons.
- NARIADENIE (ES) č. 853/2004 Európskeho parlamentu a rady z 29. apríla 2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu. STN 57 0529. 1999. Surové kravské mlieko na mliekarenské ošetrovanie a spracovanie.

PodĎakovanie

Táto práca bola podporená projektom KEGA č. 005UVLF-4/2015.

Kontaktná adresa

Doc. MVDr. Eva Dudriková, PhD.
Ústav hygieny a technológie mlieka
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Komenského 73, 041 081 Košice, SR
e-mail: eva.dudrikova@uvlf.sk

Závislosť vybraných parametrov vajec na pH bielka a žltka *Dependence of certain egg parameters on the pH of the albumen and yolk*

Fašiangová, M., Bořilová, G.

Ústav hygieny a technológie masa, Veterinárni a farmaceutická univerzita Brno

Súhrn

Táto štúdia bola zameraná na sledovanie závislosti medzi pH vaječných zložiek a vybranými funkčnými a fyzikálnymi vlastnosťami vajec. K analýzam boli použité čerstvé vajcia a vajcia skladované 35 dní. Výsledkami našej štúdie bolo preukázané, že pH bielka pozitívne koreluje s hodnotami pevnosti bielkového gélu ($r = 0,65$; $p = 0,041$) a objemom bielkovej peny ($r = 0,71$; $p = 0,023$). Naopak, medzi pH bielka a stabilitou bielkovej peny bola zistená negatívna korelácia ($r = - 0,79$; $p = 0,007$). Pozorovaním vzťahu medzi pH žltka a pevnosťou vitelínnej membrány bolo zistené, že medzi parametrami existuje veľmi silná závislosť ($r = - 0,91$; $p < 0,001$). S narastajúcim pH žltka klesali hodnoty pevnosti žltkovej membrány.

Abstract

This study was aimed at monitoring the dependence between pH of egg components and certain functional and physical properties of eggs. Fresh eggs and eggs stored for 35 days were analysed. The results of our study shown that the pH of the protein correlates positively with the protein gel strength ($r = 0.65$, $p = 0.041$) and the protein foam volume ($r = 0.71$, $p = 0.023$). Conversely, a negative correlation was found between the albumen pH and the stability of the albumen foam ($r = - 0.79$, $p = 0.007$). Such observed relation between the yolk pH and the vitelline membrane strength, indicate that there is a very strong dependence between the parameters ($r = - 0.91$; $p < 0.001$). With the increasing pH of the yolk, the values of yolk membrane strength decreased.

Kľúčové slová: *pH, žltok, bielok, starnutie, bielkoviny*

Úvod

Hodnota pH vaječných zložiek je jedným z významných indikátorov čerstvosti vajec (Chang a Chen, 2000; Silversides a Scott, 2001). pH bielka sa u čerstvo znesených vajec pohybuje od 7,6 do 8,5 (Heath, 1977). V žltku sa pH pohybuje okolo 6,0 (Brake a kol., 1997). Po znesení vajec dochádza k rade vnútorných zmien, ktoré značne menia hodnoty pH oboch vaječných zložiek. Vlastnosti a kvalita vaječného bielka je pozmenená vplyvom straty o-glykosidicky viazaných karbohydrátových jednotiek glykoproteínu, ovomucínu (Kirunda a Mckee, 2000) a následným rozpadom komplexu lyzozýmu a ovomucínu. Disociácia týchto dvoch bielkovín vedie k stenčovaniu tuhého bielka, k redukcii jeho viskozity a k strate jeho gélovitej štruktúry (Hammershøj a Qvist, 2001; Lomakina a Míková, 2006). V súvislosti s difúziou oxidu uhličitého z bielka cez póry vaječnej škrupiny dochádza po znesení vajec u bielka k rastu jeho pH (Silversides a Scott, 2001). pH bielka môže v priebehu skladovania dosiahnuť hodnoty až 9,7 (Heath, 1977). Starnutím vajec dochádza k prechodu vody z bielka do žltka, čím vyššie hodnoty pH bielka zvyšujú pH žltka (Biladeau a Keener, 2009) až na 6,4 - 6,9

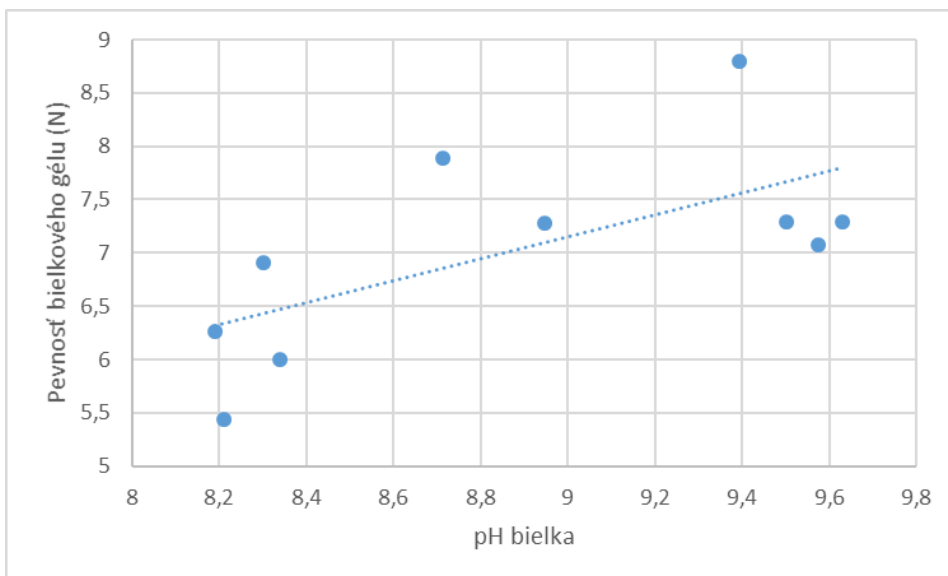
(Stadelman a Cotterill, 1995). Uvedené zmeny následne vedú k zmenám niektorých vnútorných vlastností vajec.

Materiál a metódy

K analýzam funkčných, fyzikálnych a fyzikálne-chemických parametrov boli použité čerstvé vajcia a vajcia skladované 35 dní pri teplote 16 ± 2 °C. Hodnoty pH bielka a žltka boli stanovené na pH metri pH 340i, WTW GmbH, Weilheim, Nemecko) s vpichovou elektródou (SenTIX SP, WTW GmbH, Weilheim, Nemecko). Meranie pevnosti bielkového gélu pripraveného podľa Chang a Chen (2000) a pevnosti vitelinnej membrány bolo realizované na prístroji Instron Universal Testing Machine (model 5544) (Instron Corporation, High Wycombe, UK) nastavenom na rýchlosť pohybu 50 mm/min a so zaťažením 2 kN. Pevnosť bola vyjadrená silou (N) potrebnou k 70 % deformácii bielkového gélu, prípadne k porušeniu vitelinnej membrány. Údaje boli získané prostredníctvom počítačového softvéru Merlin, Series IX (Merlin; Merlin, Richardson, USA). Index šľahateľnosti bielka bol stanovovaný u peny pripravenej vyšľahaním elektrickým šľahačom po dobu 60 sekúnd (ETA 0042 s rýchlosťou 1400 ot./min). Výpočet indexu šľahateľnosti bielka a výpočet indexu trvanlivosti bielkovej peny po 30 min od jej našľahania bol realizovaný podľa Lomakina a Míková (2006). Štatistické vyhodnotenie výsledkov bolo uskutočnené v počítačovom programe Microsoft Office Excel 2013 a v programe Statistica v. 7.0, Statsoft, CZ. Závislosť medzi parametrami bola hodnotená pomocou Pearsonovho korelačného koeficientu.

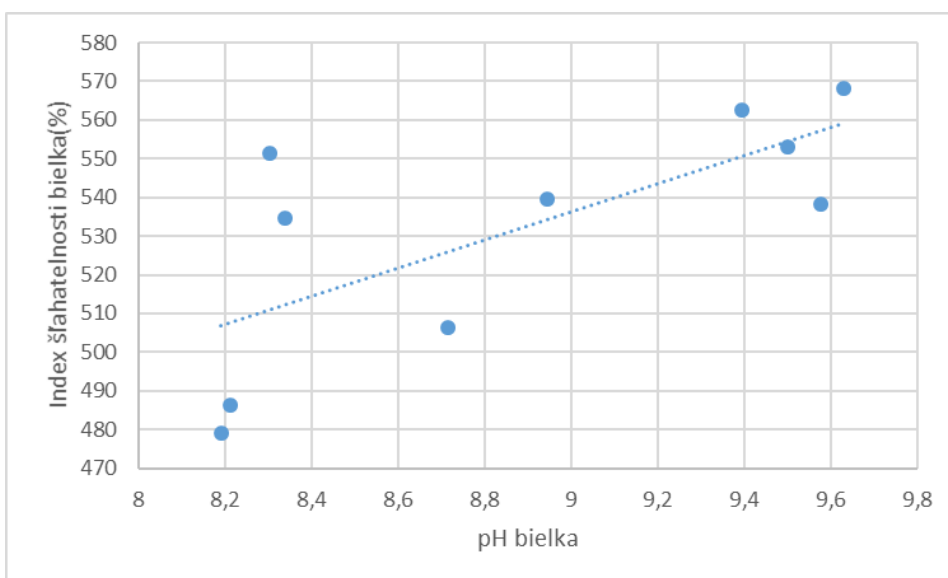
Výsledky a diskusia

Výsledkami našej štúdie bolo preukázané, že čím vyššie pH bolo u bielka namerané, tým pevnejší gél bol z neho vytvorený ($r = 0,65$; $p = 0,041$). Vplyvom vnútorných zmien vajec prebiehajúcich po ich znesení dochádza v súvislosti s únikom CO₂ k nárastu pH bielka. Bielkový gél vytvorený z vajec s nízkymi hodnotami pH a teda s vysokým podielom CO₂ sa vyznačuje bublinkovou a menej pevnou štruktúrou. Alleoni (2006) navyše uvádzajú, že pevnosť bielkového gélu môže zvýšiť prítomnosť s-ovalbumínu, ktorý vzniká transformáciou natívnej formy ovalbumínu, predovšetkým pri vyššom pH. Podiel s-ovalbumínu vzrastá pri hodnotách pH 9,0, pričom v rozmedzí pH bielka 7,0 – 8,0 je jeho podiel nižší, a preto i bielkový gél vykazuje nižšiu pevnosť. Pozitívnu koreláciu medzi pH bielka a pevnosťou bielkového gélu uvádzajú tiež Chang a Chen (2000).



Obrázok 1: Závislosť pevnosti bielkového gélu na pH bielka

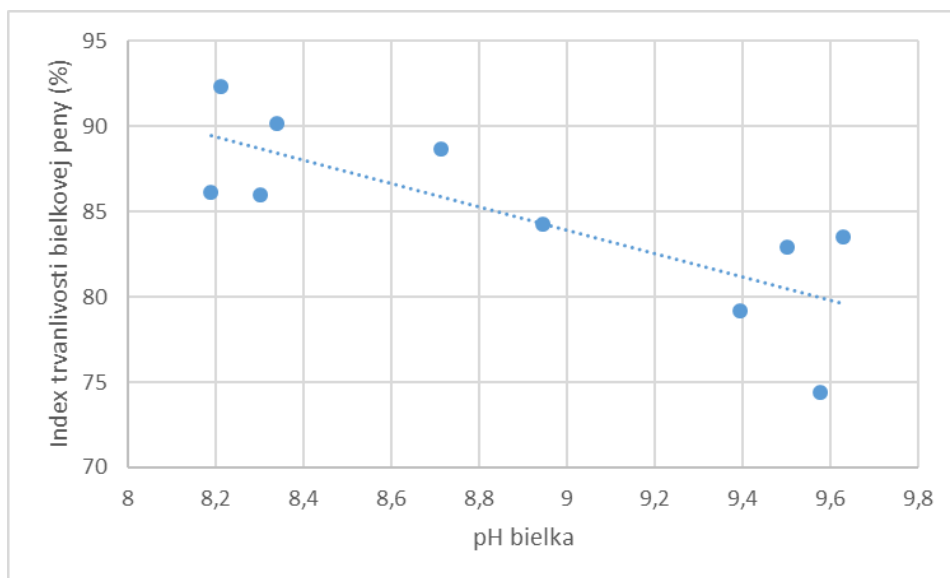
Pozitívna korelácia tiež bola preukázaná vo vzťahu medzi pH bielka a indexom šľahateľnosti bielka, teda objemom bielkovej peny ($r = 0,71$; $p = 0,023$). Objem peny významne rástol s narastajúcim pH bielka. Vyššie hodnoty objemu peny ušľahanej z bielok s vyššími hodnotami pH prezentujú aj Silversides a Budgell (2004). Biladeau a Keener (2009) dokonca uvádzajú, že zvýšením pH bielka na hodnoty 8,3 – 9,5 je možné zvýšiť objem našľahanej peny až o 3 %. V našom pokuse došlo zvýšením pH bielka na hodnotu 9,41 (priemerná hodnota pH bielka 35 dňových vajec) ku zvýšeniu objemu bielkovej peny až o 8 %.



Obrázok 2: Závislosť indexu šľahateľnosti bielka na pH bielka

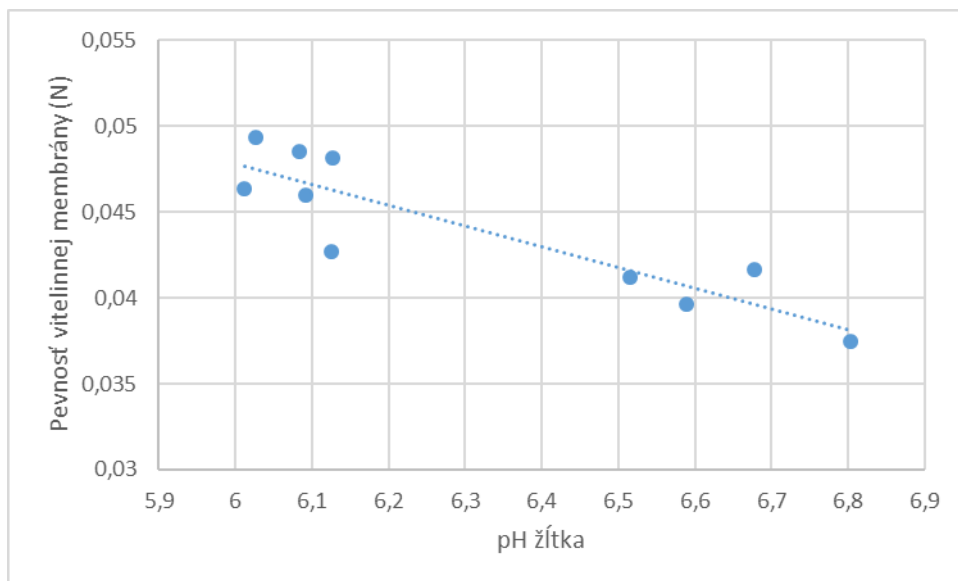
Sledovaním vzťahu medzi pH bielka a indexom trvanlivosti bielkovej peny bola naopak zistená negatívna korelácia ($r = - 0,79$; $p = 0,007$). S narastajúcim pH bielka index trvanlivosti, teda stabilita bielkovej peny, klesala. Zmenou pH bielka počas skladovania dochádza k transformácii časti n-ovalbumínu (natívnej formy ovalbumínu) na

s-ovalbumín, ktorý sa vyznačuje nižšou hydrofóbnosťou ako n-ovalbumín. Táto zmena zapríčiňuje v súvislosti s tvorbou kohézneho filmu na rozhraní vzduch a voda počas šľahania, že pena z vaječného bielka s vyšším pH vykazuje nižšiu stabilitu. (Alleoni a Antunes, 2004; Alleoni, 2006; Lomakina a Míková, 2006).



Obrázok 3: Závislosť indexu trvanlivosti bielkovej peny na pH bielka

Pozorovaním vzťahu medzi pH žĺtka a pevnosťou vitelinnej membrány bolo zistené, že medzi parametrami existuje veľmi silná závislosť ($r = -0,91$; $p < 0,001$). S narastajúcim pH žĺtka klesali hodnoty pevnosti žĺtkovej membrány. S našimi výsledkami sa stotožňujú výsledky štúdie Kirunda a McKee (2000). Autori uvádzajú, že behom starnutia vajec dochádza prechodom vody z bielka do žĺtka k rozťahovaniu vitelinnej membrány, k strate jej elasticity a k poklesu jej stability. Prechod vody z bielka do žĺtka následne vyvoláva rast pH žĺtka (Biladeau a Keener, 2009). Stratu pevnosti žĺtkovej membrány navyše spôsobuje degradácia štrukturálnych glykoproteínov a disulfidických väzieb ovomucínu vonkajšej vrstvy žĺtkovej membrány (Kirunda a McKee, 2000).



Obrázok 4: Závislosť pevnosti vitelínnej membrány na pH žltka

Záver

V súvislosti so zmenami prebiehajúcimi vo vaječnom obsahu po znesení vajec, dochádza ku zmene pH oboch vaječných zložiek.

Podľa výsledkov tejto štúdie pH bielka a žltka koreluje so všetkými sledovanými funkčnými a fyzikálnymi parametrami. Čím vyššie hodnoty pH vykazoval bielok, tým vyššiu pevnosť dosahoval jeho gél a tým vyšší objem peny bol z neho našľahaný. Naopak čím vyššie hodnoty pH bielok dosahoval, tým nižšiu stabilitu mala jeho pena. Medzi pH žltka a pevnosťou vitelínnej membrány bola potvrdená silná negatívna korelácia. Čím mal žltok vyššie pH, tým bola pevnosť jeho membrány nižšia.

Podľa hodnôt pH vaječných zložiek je teda možné odhadnúť vývoj vybraných funkčných a fyzikálnych parametrov vajec v priebehu ich starnutia.

Literatúra

- Alleoni, A.C.C., Antunes, A.J. Albumen foam stability and s-ovalbumin contents in eggs coated with whey protein concentrate. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*. 2004, **6**(2), 105–110.
- Alleoni, A.C.C. Albumen protein and functional properties of gelation and foaming. *Scientia Agricola. (Piracicaba, Braz.)*. 2006, **63**(3), 291-298.
- Biladeau, A.M., Keener, K.M. The effects of edible coatings on chicken egg quality under refrigerated storage. *Poultry Science*. 2009, **88**(6), 1266–1274.
- Brake, J., Walsh, T.J., Jr. Benton, C.E., Petite, J.N., Meijerhof, R., Penalva, G. Egg handling and storage. *Poultry Science*. 1997, **76**(1), 144–151.
- Hammershøj, M., Qvist, K. B. Importance of hen age and egg storage time for egg albumen foaming. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*. 2001, **34**(2), 118–120.
- Heath, J.L. Chemical and related changes in egg albumen during storage. *Poultry Science*. 1977, **56**(3), 822–828.
- Chang, Y.I., Chen, T.C. Functional and gel characteristics of liquid whole egg as affected by pH alteration. *Journal of Food Engineering*. 2000, **45**(4), 237-241.

Kirunda D.F.K., Mckee S.R. Relating quality characteristics of aged eggs and fresh eggs to vitelline membranes strength as determined by a texture analyzer. *Poultry Science*. 2000, **79**(8), 1189–1193.

Lomakina, K., Míková, K. A Study of the factors affecting the foaming properties of egg white – a review. *Czech Journal of Food Sciences*. 2006, **24**(3), 110–118.

Silversides, F.G., Budgell, K. The relationships among measures of egg albumen height, pH, and whipping volume. *Poultry Science*. 2004, **83**(10), 1619–1623.

Silversides, F.G., Scott, T.A. Effect of storage and layers age on quality of eggs from two lines of hens. *Poultry Science*. 2001, **80**(8), 1240-1245.

Stadelman, W.J., Cotterill, O.J. *Egg Science and Technology*. 1995, fourth ed. The Haworth Press, New York. 592 s., ISBN 9781560228547.

Pod'akovanie

Štúdia bola podporená z finančných prostriedkov inštitucionálneho výskumu VFU Brno.

Kontaktná adresa

Ing. Miroslava Fašiangová, PhD.
VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav hygieny a technologie masa
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno,
e-mail: fasiangovam@vfu.cz

Zmeny koncentrácie sodíka v krvi probandov vplyvom konzumácie celozrnných pekárskych produktov
Changes in sodium concentration in blood samples due to the consumption of whole-grain bakery products

Gažarová, M., Mrázová, J., Kolesárová, A., Chlebo, P., Kopčeková, J., Lenártová, P., Bihariová, L., Mečiarová, L.
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

Pekárske výrobky tvoria základ našej výživy, veľmi podstatné sú najmä celozrnné výrobky vďaka obsahu nutrične významných látok. Cieľom práce bolo zhodnotiť zmeny koncentrácie sodíka v krvi probandov konzumujúcich celozrnné pečivo počas 6 týždňov. Prostredníctvom nutričných záznamov bolo našim čiastkovým cieľom zhodnotiť ich stravovacie zvyklosti, pričom hlavným cieľom bolo zistiť, aký vplyv má konzumácia obohateného celozrnného pečiva na hladinu sodíka v krvi. Po zhodnotení nutričného správania konzumentov vyplynulo, že stravovacie zvyklosti probandov nekorelujú s odporúčanými výživovými dávkami, pričom sme zistili značné odchýlky. Príjem sodíka bol omnoho vyšší ako sa doporučuje. Po 6 týždňoch konzumácie celozrnného pečiva sa koncentrácia sodíka u 18 probandov zvýšila, ale na druhej strane u 9 sme zaznamenali jeho pokles. Priemerne sa však hladina sodíka počas intervencie v celom súbore nepriaznivo zvýšila (145,47 vs. 146 mol.l⁻¹; $P > 0,05$).

Abstract

Bakery products form the basis of our nutrition, especially whole grains are essential due to the content of nutritionally important substances. The aim of the work was to evaluate the changes in sodium concentration in the blood of participants who consumed whole-grain bakery products for 6 weeks. Our partial goal was to evaluate their eating habits through the nutritional records; the main goal was to find out the effect of the consumption of whole-grain bread and pastries on the blood sodium level. The eating habits of the probands did not correlate with the recommended nutritional intake, and we found significant variations. Sodium intake was much higher than recommended. After 6 weeks of consumption of whole grain breads, the sodium concentration in 18 probands increased and in 9 participants we recorded a decrease. On average, however, the sodium level has been adversely increased throughout the intervention (145.47 vs. 146 mol.l⁻¹; $P > 0.05$).

Kľúčové slová: pekárske produkty, celozrnný chlieb, sodík, výživa, zdravie

Úvod

Primárnou potrebou života človeka je dostatočná a primeraná výživa. Jedlo poskytuje energiu a nevyhnutné živiny, ktoré sú potrebné pre život (MacDonald a Reitmeier, 2017). Správna výživa má zabezpečiť z hľadiska prísunu energie, stavebných látok a esenciálnych živín – fyziologické potreby organizmu, rovnováhu látkovej premeny, dobrý imunitný stav, udržiavať dobrý zdravotný stav, optimálnu psychickú aj fyzickú aktivitu, správny vývin a dlhý vek. Hoci zdravotný stav ovplyvňujú viaceré faktory, výživa je jedným z hlavných faktorov (Kunová, 2011). Pekárske výrobky tvoria základ našej výživy. Sú významnou potravinou, ktorá je pre ľudský organizmus bohatým

zdrojom živín. Zaradujeme sem celý sortiment chleba a pečiva (Kubicová et al., 2004). Celozrnné výrobky sú veľmi podstatné v ľudskej výžive, vďaka obsahu nutrične významných látok. Vyznačujú sa vyšším obsahom vlákniny, minerálií, vitamínu E a vitamínov skupiny B. Ich pravidelná konzumácia má protektívny účinok a znižuje riziko vzniku viacerých ochorení. Celozrnné výrobky znižujú hladinu cholesterolu, čím znižujú riziko ochorenia srdca, taktiež cukrovky 2. typu a hypertenzie. Ich konzumácia tiež poskytuje redukciu hmotnosti vďaka spomínanému obsahu vlákniny, ktorá zanecháva pocit sýtosti, vďaka čomu nedochádza k prejedaniu sa (Prugar et al., 2008). Sodík je zaradovaný medzi hlavné extracelulárne kationy ľudského organizmu. Najčastejšie ho prijímame v podobe chloridu sodného. Do organizmu sa dostáva ako súčasť vo vode rozpustných sodných solí. V tele dospelého človeka predstavuje celkové množstvo sodíka asi 70-100 g. Sodík predstavuje 92 % všetkých kationov a 46 % všetkých extracelulárne aktívnych látok (Odstrčil a Odstrčilová, 2006). Sodík je veľmi dôležitá minerálna látka, ktorej hlavnou funkciou je regulovanie distribúcie telesných tekutín a acidobázickej rovnováhy. Ak je v tele prítomný v nadmernom množstve, stáva sa látkou veľmi nebezpečnou (Gröber, 2010). Zastáva radu významných funkcií, podieľa sa na regulácii objemu krvnej plazmy (krvného tlaku), na udržiavaní acidobázickej rovnováhy a osmotického tlaku (Bednář a Vranová, 2011). Cieľom tejto práce bolo zistiť, do akej miery ovplyvní konzumácia celozrnného chleba a pečiva hladinu sodíka v krvi konzumentov.

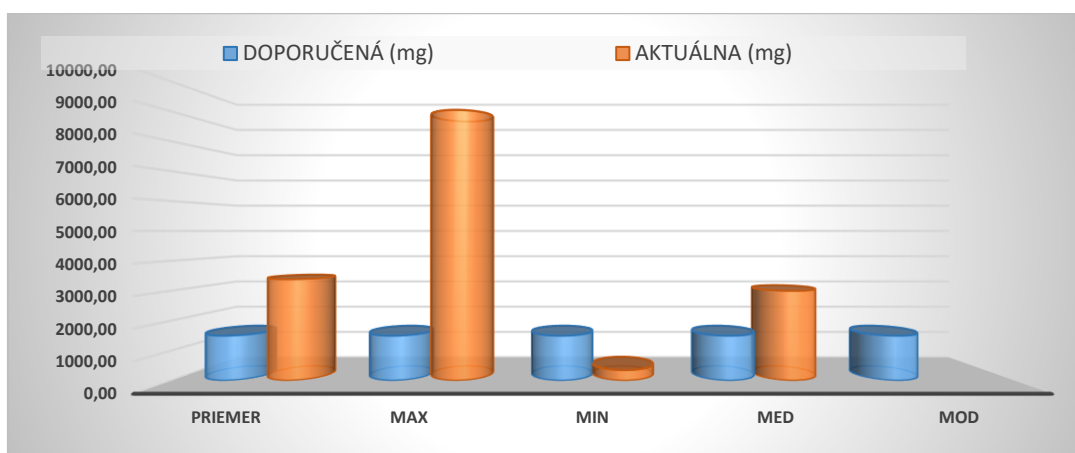
Materiál a metodika

Do štúdie sme zaradili 30 participantov, ktorých sme vybrali náhodne z bežnej populácie. Priemerný vek súboru bol 39,7 rokov. Podmienkou k účasti bol dobrý zdravotný stav a neprítomnosť závažného ochorenia, ktoré by mohli ovplyvniť výsledky štúdie a akceptácia všetkých podmienok klinickej štúdie potvrdená písomným súhlasom. Intervencia predstavovala 6-týždňovú konzumáciu celozrnných pekárskych produktov bez zmeny stravovacích návykov konzumentov. Množstvo chleba a pečiva bolo určené podľa súčasných odporúčaní pre príjem týchto produktov pre ženy 150-200 g, pre mužov 200-250 g na deň. Účastníci štúdie ešte pred zahájením konzumácie pekárskych výrobkov absolvovali 1. odber krvi, ďalší nasledoval bezprostredne po ukončení intervencie. Odber venóznej krvi sa uskutočnil štandardným spôsobom nalačno z periférnej žily. Krv bola následne spracovaná a koncentrácia sodíka stanovená v laboratóriách na Oddelení klinickej biochémie Špecializovanej nemocnice sv. Svorada Zobor, n.o. Ako referenčnú normu sme použili rozmedzie 135-145 mmol.l⁻¹ pre obe pohlavia podľa Medirexu (URL 1). Za účelom zistenia stravovacích zvyklostí probandov a odhadu priemerného príjmu sodíka zo stravy sme použili trojdňový nutričný protokol. K jeho spracovaniu sme využili program Mounberry – Nutrition & Fitness Software (2011, Version 1.1), ktorý pre vyhodnotenie plnenia normy pre príjem živín využíva OVD SR z roku 2015 (Kajaba et al., 2015).

Výsledky a diskusia

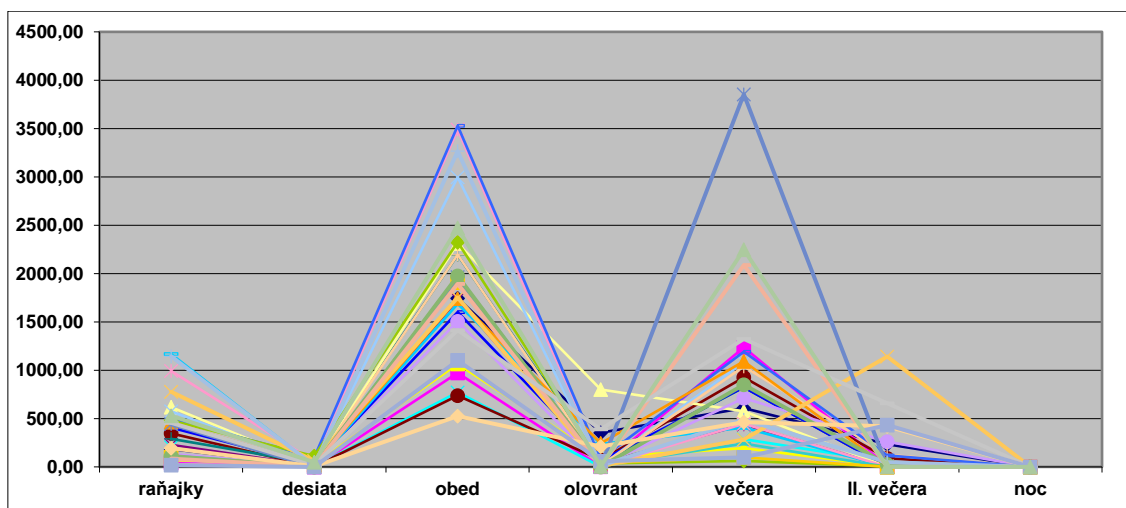
Bez optimálneho množstva minerálií a stopových prvkov by náš organizmus nemohol správne fungovať. Je však dôležité, v akej forme a v akom množstve ich svojmu telu dodávame. Naše telo potrebuje väčšie množstvo makroelementov, akými sú sodík, horčík, draslík alebo vápnik, o dosť menej mikroelementov (zinok, železo) a veľmi malé množstvo stopových prvkov (selén a jód). K ich správne využitiu potrebuje telo niekedy aj synergicky pôsobiace látky.

Štatisticky sa zistila súvislosť medzi vysokou spotrebou kuchynskej soli a vysokým krvným tlakom. Ďalšími následkami vysokej spotreby sodíka môžu byť bolesti hlavy a tiež nahromadenie vody v tele (edémy) a poškodenie obličiek a srdca (Ursellová, 2004). V našom súbore sme zaznamenali výrazné prekročenie normy pre príjem sodíka podľa súčasných odporúčaných výživových dávok pre SR. Na obr. 1 je vidieť, že priemerná spotreba sodíka u našich probandov (3387 mg) prekročila odporúčanú hodnotu (1500 mg) o 2,25-krát. Maximálny doporučený príjem sodíka 1500 mg bol prekročený až 6-násobne, čo môžeme považovať za neprimerane vysoký príjem, ktorý je zdraviu škodlivý. Odporúčané denné dávky sodíka sa spravidla prekračujú pri strave bohatej na priemyselne spracované výrobky. Príjem sodíka vyšší ako 1500 mg u jednotlivých probandov (obr. 2) sme zaznamenali jednorázovo až u 21 participantov počas obeda a u troch subjektov v rámci večere. V prípade raňajok, desiatej, olovrantu a druhej večere nebol príjem vyšší ako 1500 mg.



Obrázok 1: Porovnanie doporučenej a aktuálnej spotreby sodíka v mg u všetkých probandov

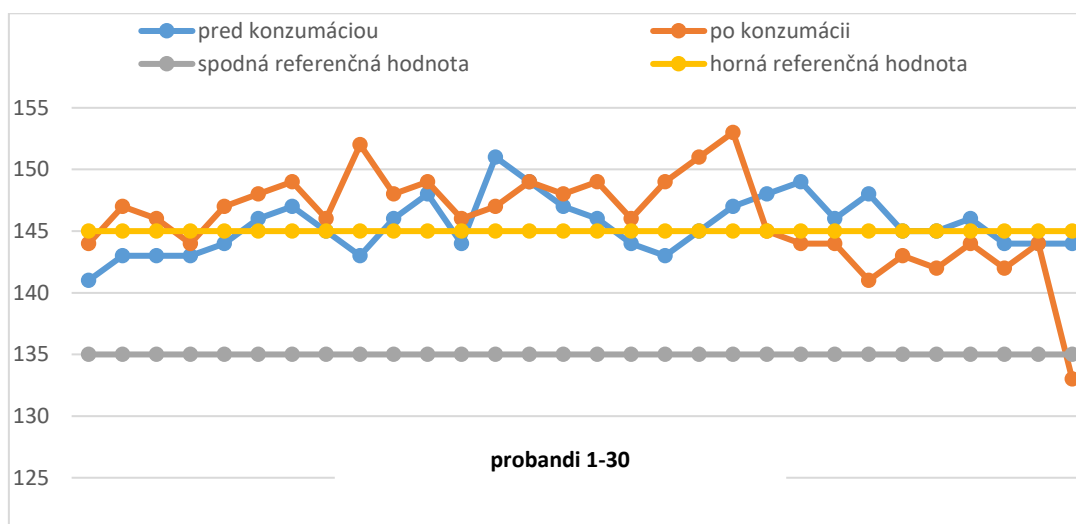
Vysvetlivky: max – maximálna hodnota; min – minimálna hodnota; med – stredná hodnota rozsahu hodnôt; mod – najčastejšie sa opakujúca hodnota



Obrázok 2: Rozdelenie príjmu sodíka v mg počas dňa u jednotlivých probandov

Interpretácia výsledkov klinicko-biochemických vyšetrení je založená v prvom rade na porovnávaní konkrétneho výsledku s tzv. referenčnými hodnotami. Referenčné

hodnoty predstavujú akúsi normu, t.j. hranice, do ktorých sa zmestí väčšina zdravej populácie, a preto sa tieto hodnoty kedysi nazývali „normálne“ (Dzúrik et al., 1990). Sodík sa v krvi nachádza v koncentrácii 136-145 mmol.l⁻¹. Jeho podiel na telesnej hmotnosti je 0,15-0,30 %. V tele dospelého človeka je obsiahnutých približne 105 g sodíka. Nachádza sa prevažne v extracelulárnych tekutinách (70 %) a iba malá časť je viazaná v bunkách. Asi 30-40 % sodíka sa nachádza v kostiach, ale sodík odtiaľ nie je ľahko mobilizovateľný. Odporúčané denné množstvo sodíka pre príjem je 1500 mg. Nároky na zvýšené dávky sodíka sa môžu prejavovať u športujúcich a fyzicky ťažko pracujúcich ľudí v dôsledku zvýšenej miery potenia (Gröber, 2010). K zvýšeniu koncentrácie sodíka v sére dochádza pri veľkej strate vody (zvracanie, hnačky, silné potenie); znížením vylučovania sodíka cez obličky, čo vedie k nahromadeniu tekutín v tkanive a vzniku edému. Znížené hodnoty sodíka sa vyskytujú pri nízkom príjme sodíka, malnutriácii, extrémnom príjme vody, po vracaní, silnom potení (sauna), ochoreniach srdca a pečene a pri užívaní diuretík, pri vytrvalostných športoch, ťažkých úrazoch svalov a popáleninách (Wilhelm, 2006). Obr. 3 nám zobrazuje koncentráciu sodíka (mmol.l⁻¹) v sledovanej skupine v rámci uskutočneného výskumu. Ako môžeme vidieť, jeho koncentrácia bola rozmanitá, jednak pred konzumáciou a jednak po konzumácii pečiva.



Obrázok 3: Porovnanie koncentrácie sodíka v mmol.l⁻¹ pred a po konzumácii celozrnných pekárskeho výrobkov u jednotlivých probandov

Po stanovení referenčných hodnôt, spodnej (135 mmol.l⁻¹) a hornej (145 mmol.l⁻¹), ktoré boli rovnaké pri oboch pohlaviach, sme zistili, že 14 probandov malo vyššiu koncentráciu sodíka ako 145 mmol.l⁻¹ už pred konzumáciou a 16 probandov svojou koncentráciou neprekročilo hornú referenčnú hranicu. Po konzumácii malo vyššiu koncentráciu sodíka až 18 probandov. U 7 probandov, ktorých koncentrácia sodíka pred konzumáciou bola v rámci normy, došlo k výraznému zvýšeniu hladiny sodíka v krvi po konzumácii pečiva. No na druhej strane, u desiatich subjektov sme zaznamenali po konzumácii pečiva značné zníženie hladiny sodíka v krvi. Dokonca v prípade jedného konzumenta sa hladina sodíka po konzumácii znížila až pod spodnú referenčnú hodnotu. Priemerná koncentrácia sodíka sa nám po konzumácii pečiva zvýšila o 0,53 mmol.l⁻¹ (tab. 1). Maximálna zaznamenaná hodnota po konzumácii predstavovala 153 mmol.l⁻¹. Koncentrácia sodíka 144 mmol.l⁻¹ bola najčastejšie sa vyskytujúcou

hodnotou v oboch prípadoch (pred aj po konzumácii). Vplyv obmedzeného a zníženého príjmu sodíka bol publikovaný už mnohokrát. Masívna štúdia uverejnená v časopise *British Medical Journal*, zahŕňajúca súbor 47 000 ľudí z rôznych populácií preukázala, že obmedzenie príjmu sodíka o 2,3 g na deň dokázalo znížiť systolický tlak krvi o 10-15 mmHg. Iná štúdia uverejnená v *American Journal of Hypertension* o vplyve DASH diéty poukázala na to, že pri diéte s vysokým podielom ovocia, zeleniny a značným obmedzením tukov dochádza aj k značnému úbytku prijatého sodíka (Bednář a Vranová, 2011).

Tabuľka 1: Základná štatistická charakteristika koncentrácií sodíka v mmol.l⁻¹ pred a po konzumácii celozrnných pekárskych výrobkov v celom súbore

koncentrácia sodíka	pred konzumáciou	po konzumácii
priemer	145,47	146,00
max	151,00	153,00
min	141,00	133,00
mod	144,00	144,00
med	145,00	146,00

Vysvetlivky: max – maximálna hodnota; min – minimálna hodnota; mod – najčastejšie sa opakujúca hodnota; med – stredná hodnota rozsahu hodnôt

Záver

Príjem sodíka môžeme ovplyvniť správnu stravou a výberom potravín, pretože tri štvrtiny jeho príjmu pochádzajú z priemyselne spracovaných potravín, ako je pečivo, mäsové výrobky, mliečne výrobky, najmä syry. Koncentrácia sodíka v krvi sa v našej štúdiu po intervencii zvýšila u 18 probandov, ale na druhej strane, u 9 zúčastnených sme zaznamenali pokles jeho hladiny pod možným vplyvom konzumácie tohto druhu pečiva. Celkovo sa však priemerná hladina sodíka v celom súbore zvýšila, pričom ako vstupné, tak aj výstupné priemerné hodnoty presahovali hornú referenčnú hranicu pre tento sledovaný parameter. Z tohto hľadiska hodnotíme konzumáciu celozrnných pekárskych výrobkov ako rizikový vo vzťahu k negatívnym zmenám v koncentrácii sodíka v krvi.

Literatúra

Bednář, J., Vranová, V. 2011. Úloha sodíku v prevencii a léčbě hypertenze – praktická realizace. *Interní medicína pro praxi* 2011;12(2):88-89. <https://www.internimedica.cz/pdfs/int/2011/02/08.pdf>.

Dzúrik, R., Dzúriková, V., Janiš, J., Kadlec, O., Kováč, G., Muller, R., Okša, V., Pozdechová, E., Pullman, R., Revúsová, V., Rosival, V., Slugeňová, E., Spustová, V., Valovičová, E., Volmut, J. 1990. Štandardná klinickobiochemická diagnostika. Martin: Osveta, 1990. 448 s. ISBN 80-217-0116-1.

Gröber, U. 2010. Mikronutrienty. Bratislava: Balneotherma, 477 s. ISBN 978-80-970-1564-0.

Kajaba, I., Štencl, J., Ginter, E., Šašínska, M.A., Trusková, I., Gazdíková, K., Hamade, J., Bzdúch, V. 2015. Odporúčané výživové dávky pre obyvateľstvo SR (9. revízia). In *Vestník MZ SR* 2015, roč. 63, čiastka 4-5, s. 17-28. <file:///C:/Documents%20and%20Settings/user/Dokumenty/vestnik-2015-4-5.pdf>.

Kubicová, D. et al. 2004. *Náuka o požívatinách*. Martin : Osveta. 159 s. ISBN 80-8063-165-4.

- Kunová, V. 2011. Zdravá výživa. 2. vyd. Praha: Grada Publishing. 140 s. ISBN 978-80-247-3433-0.
- MacDonald, R., Reitmeier, Ch. 2017. Understanding Food Systems. Academic Press 2017:227-285. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804445-2.00007-7>
- Odstrčil, J., Odstrčilová, M. 2006. Chemie potravin. Brno: Mikadapress, 164 s. ISBN 80-7013-435-6.
- Prugar, J. et al. 2008. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladářský ve spolupráci s Komisí jakosti rostlinných produktů ČZV. 327 s. ISBN 978-80-86576-28-2.
- URL 1 <https://www.laboratornadiagnostika.sk/pre-lekarov/toxikologia/referencne-hodnoty>
- Uršellová, A. 2004. Vitamíny a minerály. Bratislava: Noxi. 128 s. ISBN 80-89179-00-2.3
- Wilhelm, Z. 2006. Co je dobré vědět o sodíku. Praktické lékařství 2006;4:195-197. file:///C:/Users/Lea/Desktop/material%20na%20diplomovku/Solen_lek-200604-0010.pdf.

PodĎakovanie

Táto práca vznikla s podporou **Únie priemyselných pekárov SR, Grantovej agentúry SPU v Nitre: 01-GA SPU-17** a s podporou Výskumného centra AgroBioTech vybudovaného v rámci projektu Vybudovanie výskumného centra „AgrobioTech“ (ITMS 26220220180) a projektu VEGA 1/0364/15.

Kontaktná adresa

Ing. Martina Gažarová, PhD.
SPU v Nitre, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov
Katedra výživy ľudí
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra,
e-mail: martina.gazarova@gmail.com

Vplyv konzumácie pekárskeho výrobku bez obsahu lepku na koncentrácie sodíka v krvi probandov
The effect of gluten-free bakery products consumption on blood sodium levels in probands

Gažarová, M., Chlebo, P., Kolesárová, A., Kopčeková, J., Mrázová, J.
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

Vzhľadom na vysoký príjem sodíka v strave sa odporúča obmedziť konzumáciu potravín bohatých na tento minerál, alebo znižovať jeho množstvo v produktoch. Za významný zdroj soli sa považujú aj pekárske produkty, preto nás zaujímalo, ako ovplyvní konzumácia bezlepkového chleba a pečiva hladinu sodíka v krvi konzumentov. V našej práci sa potvrdil pozitívny vplyv 6-týždňovej konzumácie bezlepkových pekárskeho výrobkov na hladinu sodíka v krvi probandov. V období ich bezprostrednej konzumácie došlo k významnému zníženiu hladiny sodíka zo $135,5 \pm 1,43 \text{ mmol.l}^{-1}$ na $131,83 \pm 4,02 \text{ mmol.l}^{-1}$, avšak dva mesiace po vylúčení bezlepkového pečiva zo stravy už bola priemerná hladina sodíka celého súboru $141,43 \pm 1,57 \text{ mmol.l}^{-1}$. V našom prípade sa nepotvrdil negatívny vplyv konzumácie bezlepkových pekárskeho výrobkov na koncentráciu sodíka v krvi.

Abstract

Due to the high intake of sodium in diet, it is therefore recommended to limit the consumption of foods rich in this mineral or to reduce its amount in products. A bakery product is also considered to be a significant source of salt, so we were interested in how the gluten-free bread and bakery products affect the sodium level in the blood of consumers. In our work, the positive effect of 6-week consumption of gluten-free bakery products on sodium levels in probands blood was confirmed. During immediate consumption there was a significant reduction of sodium level from $135.5 \pm 1.43 \text{ mmol.l}^{-1}$ to $131.83 \pm 4.02 \text{ mmol.l}^{-1}$, however, after excluding gluten-free bread from the diet, the average sodium level was already $141.43 \pm 1.57 \text{ mmol.l}^{-1}$. In our case, the negative effect of consumption of gluten-free bakery products on the sodium concentration in the blood was not confirmed.

Kľúčové slová: *pekárske produkty, bezlepkový chlieb, sodík, soľ, výživa*

Úvod

Svetová zdravotnícka organizácia odporúča pre dospelých optimálny bezpečný denný príjem sodíka menej ako 2000 mg alebo 5 g soli (WHO, 2012). Podľa štúdie uskutočnenej v Európe sa predpokladá, že spracované potraviny sú hlavným zdrojom sodíka v strave (asi 70-75 % celkového príjmu), pričom približne 10-15 % sa vyskytuje prirodzene v nespracovaných potravinách a asi 10-15 % tvorí sodík, ktorý sa pridáva do pokrmov počas varenia a pri stole. Vyšší obsah sodíka vo forme chloridu sodného v spracovaných potravinách môžeme nájsť napríklad v chlebe a pečive – priemerne $20 \text{ mmol.100 g}^{-1}$ (EFSA, 2005). Mazzeo et al. (2015) uvádzajú, že len 14 zo 60 bezlepkových výrobkov mohlo byť v ich štúdiu klasifikovaných ako „potraviny s nízkym obsahom sodíka“ (<120 mg na 100 g) a kategória chlieb, pizza, ľahké občerstvenie a múka vykazovali jeho veľmi vysoký obsah >400-500 mg na 100 g.

V štúdiu uskutočnenej WHO sa zistilo, že vypočítaný obsah sodíka v obilninách a výrobkoch z nich (chlieb, raňajkové cereálie, sušienky, koláče) sa pohyboval na úrovni 250 mg na 100 g (WHO, 2012). Mhurchu et al. (2011) analyzovali 44372 potravinárskych výrobkov, pričom zistili, že najväčšími prispievateľmi sodíka v strave boli stolová soľ (23 %), spracované mäso (18 %), chlieb a pekárske výrobky (13 %), mliečne výrobky (12 %) a omáčky a nátierky (11 %). Turner et al. (2015) vo svojej štúdiu zistili, že 30-35 % príjmu sodíka pochádzalo z bezlepkových chlebov a cereálií, pričom 15-18 % pochádzalo z chlebov samotných. K podobným výsledkom dospeli aj Keogh et al. (2012) v predchádzajúcej štúdiu, pri ktorej samotný chlieb prispel s 19 % príjmu sodíka, celkový podiel chlebov a cereálií bol na úrovni 32,5 %. Podobne aj Charlton et al. (2010) uvádzajú podiel chleba a cereálií na príjme sodíka v množstve 27 %. Hoci chlieb má relatívne nízky obsah chloridu sodného, jeho vysoký podiel na príjme NaCl je spôsobený predovšetkým vysokými množstvami skonzumovaného produktu. Cieľom našej práce bolo posúdiť vplyv 6-týždňovej konzumácie bezlepkového chleba a pečiva na zmeny koncentrácie sodíka v krvi zdravých probandov.

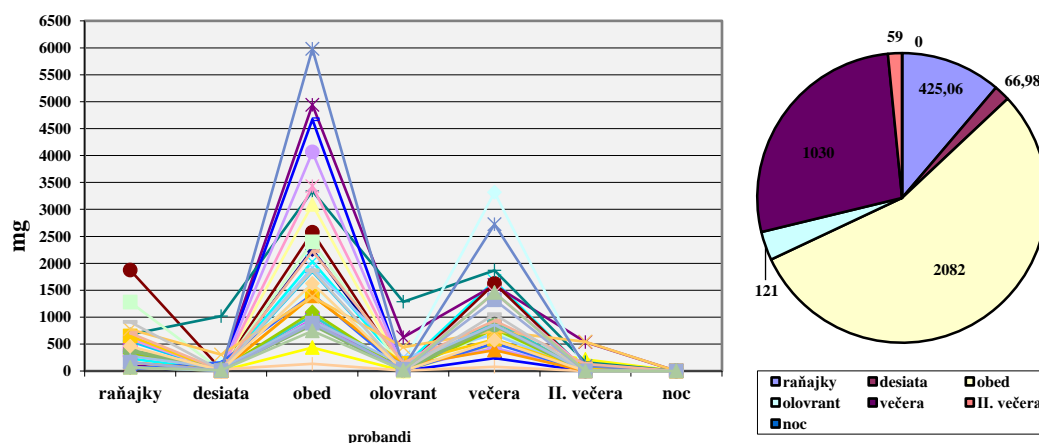
Materiál a metodika

Do výskumného projektu bolo zaradených 30 probandov, ktorí boli vybraní náhodným výberom. Podmienkou k účasti bol dobrý zdravotný stav a neprítomnosť závažného ochorenia, ktoré by mohli ovplyvniť výsledky štúdie a akceptácia všetkých podmienok klinickej štúdie potvrdená písomným súhlasom. Účastníci štúdie konzumovali počas 6 týždňov pekárske produkty bez obsahu lepku bez zmeny svojich stravovacích zvyklostí a nedodržiavali bezlepkovú diétu. Priemerný vek probandov bol 29,73 rokov. Množstvo chleba a pečiva bolo určené podľa súčasných odporúčaní pre príjem týchto produktov nasledovne: pre probandov ženského pohlavia bola stanovená denná dávka 150-200 g, pre mužské pohlavie 200-250 g na deň. Účastníci štúdie ešte pred zahájením konzumácie pekárskych výrobkov absolvovali 1. odber krvi, ďalší nasledoval bezprostredne po ukončení intervencie a posledný odber 8 týždňov po ukončení konzumácie pekárskych výrobkov. Odber venóznej krvi sa uskutočnil štandardným spôsobom nalačno z periférnej žily. Krv bola následne spracovaná podľa potreby a charakteru analýz. Koncentrácia sodíka bola stanovená v laboratóriách na Oddelení klinickej biochémie Špecializovanej nemocnice sv. Svorada Zobor, n.o. Ako referenčné hodnoty sme použili údaje z Medirexu (URL 1), čiže rozmedzie 135-145 mmol.l⁻¹ pre obe pohlavia. Za účelom zistenia stravovacích zvyklostí probandov a odhadu priemerného príjmu sodíka zo stravy sme použili trojdňový nutričný protokol. K jeho spracovaniu sme využili program Mountberry – Nutrition & Fitness Software (2011, Version 1.1), ktorý pre vyhodnotenie naplnenia normy pre príjem živín využíva OVD SR z roku 2015 (Kajaba et al., 2015).

Výsledky a diskusia

Príliš veľa sodíka v strave zvyšuje riziko vysokého krvného tlaku a je jedným z hlavných rizikových faktorov ochorenia srdca (Perk et al., 2012). Okrem toho vysoký príjem sodíka vyplavuje vápnik, a tak nadmerné solenie podporuje vznik osteoporózy (Svačina a Bretšnajdrová, 2008). Iniciatívy na zníženie výskytu sodíka v potravinách v rôznych častiach sveta ukázali, že je to veľmi náročný proces a pravdepodobne bude vyžadovať veľa rokov na dosiahnutie stanoveného cieľa (Barr, 2010). WHO a Európska únia vypracovali stratégie na zníženie príjmu soli (WHO, 2006; Rada Európskej únie,

2010). Zdraví konzumenti by sa mali snažiť o denný príjem menej ako 1500 mg sodíka. Bežne sa táto hodnota prekračuje 2-5 násobne. Môžeme to potvrdiť aj v našom prípade (Obr. 1, 2), keď priemerný príjem sodíka bol 3929 mg a odporúčaný príjem bol naplnený na 254 %. Priemerné hladiny sodíka v celom súbore sa počas štúdie menili signifikantne v každom sledovanom období ($P < 0,001$; Tab. 2). Na začiatku štúdie sa hladina sodíka nachádzala na hodnote $135,5 \pm 1,43 \text{ mmol.l}^{-1}$, následne sa v období konzumácie jeho hladina znížila na $131,83 \pm 4,02 \text{ mmol.l}^{-1}$, avšak po ďalších dvoch mesiacoch už bola priemerná hladina sodíka celého súboru $141,43 \pm 1,57 \text{ mmol.l}^{-1}$.



Obrázok 1: Rozdelenie príjmu sodíka počas dňa u jednotlivých probandov

Obrázok 2: Priemerné rozdelenie príjmu sodíka v mg počas dňa u všetkých probandov

Referenčná norma sa pre tento parameter nachádza v rozmedzí hodnôt 135-145 mmol.l^{-1} ,

na základe čoho môžeme povedať, že kým na začiatku štúdie malo hladinu sodíka v sére pod normou 7 osôb (23 %; priemer 134 mmol.l^{-1}), po 6 týždňoch konzumácie to už bolo 23 osôb (77 %; priemer 130 mmol.l^{-1} Tab. 1). Na konci štúdie sa v tejto kategórii nenachádzal žiadny proband.

Tabuľka 1: Rozdelenie probandov (počet) do jednotlivých kategórií podľa referenčných hodnôt v dynamike štúdie

sodík (mmol.l^{-1})	1. odber		2. odber		3. odber	
	n	priemer	n	priemer	n	priemer
< 135	7	134	23	130	0	-
135-145	23	136	7	137	30	141
> 145	0	-	0	-	0	-

Tabuľka 2: Základné charakteristiky a zmeny hladiny sodíka v súbore v priebehu štúdie

	(mmol.l ⁻¹)		
	1. odber	2. odber	3. odber
priemer	135,50	131,83	141,43
±SD	1,43	4,02	1,57
max	139,00	142,00	144,00
min	133,00	125,00	138,00
mod	135,00	129,00	141,00
med	135,00	131,00	141,00
P	<0,001 ^a	<0,001 ^b	<0,001 ^c
významnosť	***	***	***

Vysvetlivky: ±SD – smerodajná odchýlka; max – maximálna hodnota; min – minimálna hodnota; mod – najčastejšie sa opakujúca hodnota; med – stredná hodnota rozsahu hodnôt; úroveň štatistickej významnosti vybrané pre porovnanie boli $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***); a – rozdiel medzi počiatocnými a post-intervenčnými údajmi (po 6-týždňovej konzumácii); b – rozdiel medzi údajmi získanými po šiestich týždňoch konzumácie (intervencii) a údajmi na konci štúdie (po 8 týždňoch); c – rozdiel medzi počiatocnými a konečnými údajmi (po 14 týždňoch zahŕňajúcich nutričnú intervenciu a obdobie bez intervencie)

V rozmedzí normy bola na začiatku väčšina probandov (77 %; priemer 136 mmol.l⁻¹), ale pri druhom odbere už len 7 osôb (priemer 137 mmol.l⁻¹). Pri poslednom odbere krvi sa všetci probandi nachádzali so svojimi hodnotami hladiny sodíka v norme (priemer 141,43±1,57 mmol.l⁻¹). Čo je prekvapujúce, žiaden z probandov nemal počas celej doby štúdie hladinu sodíka v sére nad hornou hranicou referenčných hodnôt. Individuálne sa u jednotlivcov hladina sodíka menila v dynamike štúdie nasledovne: v období konzumácie bezpečkových pekárskych produktov klesla hladina sodíka u 22 osôb (73 %; priemerne o -5,6 mmol.l⁻¹, min. o -1 mmol.l⁻¹ a max. o -11 mmol.l⁻¹). Zvýšenie hodnôt sme pozorovali u 6 probandov s priemerným zvýšením o 2,3 mmol.l⁻¹ (min. o 1 mmol.l⁻¹ a max. o 6 mmol.l⁻¹). U dvoch probandov sa hladina sodíka nezmenila. Ale v období medzi druhým a tretím odberom, čiže v období bez konzumácie bezpečkového pečiva nastal pokles hladiny sodíka len u jedného probanda, u všetkých ostatných 29 jedincov sme zaznamenali vzostup priemerne o 10 mmol.l⁻¹ (min. o 3 mmol.l⁻¹ a max. o 16 mmol.l⁻¹). Ako sme už spomenuli vyššie, pri porovnaní počiatocných a konečných hodnôt sme u probandov zistili zvýšenie hladiny sodíka u všetkých zúčastnených. Oproti začiatku štúdie sa hladina sodíka v celom súbore zvýšila priemerne o 5,9 mmol.l⁻¹ (min. o 3 mmol.l⁻¹ a max. o 10 mmol.l⁻¹). Vzhľadom na všetky dostupné dôkazy je odporúčané znížiť príjem sodíka na maximálne 100 mmol na deň (približne 6 g NaCl alebo 2400 mg sodíka denne) (Hermansen, 2000; Riccardi et al., 2011). V posledných rokoch vzbudzuje vysoký obsah sodíka celosvetovo rastúce znepokojenie. Rozsiahle zníženie koncentrácie soli v spracovaných potravinách sa považuje za jednu z najúčinnějších stratégií na dosiahnutie krátkodobého a pozitívneho vplyvu na globálne zdravie. Jednou z hlavných výziev pri znižovaní obsahu soli v potravinárskych výrobkoch je negatívny vplyv na chuťové preferencie spotrebiteľov. Z tohto dôvodu sa preto odporúča postupné a nie radikálne znižovanie množstva soli. Zníženie obsahu soli v týchto výrobkoch by mohlo mať pozitívny vplyv na zdravie populácie. Vzhľadom na rozšírenú spotrebu chleba niekoľko štúdií skúmalo vplyv redukcie sodíka na tento produkt (Pflaum et al., 2013; La Croix et al., 2014; Rødbotten et al., 2015; Spina et al., 2015).

Záver

V našej práci sme hodnotili príjem sodíka v bežnej strave probandov, ako aj vplyv 6-týždňovej konzumácie bezpečkového chleba a pečiva na hladinu sodíka v krvi.

Výsledky ukázali, že príjem sodíka je v strave pomerne vysoký, avšak počas obdobia intervencie došlo k signifikantnému zníženiu jeho koncentrácie v krvi, a aj napriek tomu, že sa bezlepkové pečivo považuje za významný zdroj sodíka v potrave, v našej štúdii sa jeho negatívny vplyv z hľadiska zmien koncentrácií sodíka nepotvrdil. Po vylúčení bezlepkového chleba a pečiva sa hodnoty sodíka v krvi probandov s odstupom dvoch mesiacov radikálne a nepriaznivo zvýšili. Aj napriek vysokému príjmu sodíka v strave a predsudkom voči bezlepkovému pečivu sa počas celej doby štúdie hladina sodíka v krvi nezvýšila nad hornú referenčnú hranicu.

Literatúra

- Barr, S.I. 2010. Reducing dietary sodium intake: the Canadian context. *Appl. Physiol. Nutr. Met.*2010;35:1-8.
- EFSA, 2005. Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the Tolerable Upper Intake Level of Sodium, Adopted on 21 April 2005. *The EFSA Journal*, 209, 1-26.
- Hermansen, K. 2000. Diet, blood pressure and hypertension. *British Journal of Nutrition* 2000;83(Suppl. 1):113-119. <https://doi.org/10.1017/S0007114500001045>
- Charlton, K., Yeatman, H., Houweling, F., Guenon, S. 2010. Urinary sodium excretion, dietary sources of sodium intake and knowledge and practices around salt use in a group of healthy Australian women. *Aust N Z J Public Health* 2010;34:356-363.
- Kajaba, I., Štencl, J., Ginter, E., Šašinka, M.A., Trusková, I., Gazdíková, K., Hamade, J., Bzdúch, V. 2015. *Odporúčané výživové dávky pre obyvateľstvo SR (9. revízia)*. In *Vestník MZ SR 2015, roč. 63, čiastka 4-5, s. 17-28*. Dostupné na: <file:///C:/Documents%20and%20Settings/user/Dokumenty/vestnik-2015-4-5.pdf>.
- Keogh, J.B., Lange, K., Hogarth, R., Clifton, P.M. 2012. Foods contributing to sodium intake and urinary sodium excretion in a group of Australian women. *Public Health Nutr* 2012;16:1837-1842.
- La Croix, K.W., Fiala, S.C., Colonna, A.E., Durham, C.A., Morrissey, M.T., Drum, D.K., et al. 2014. Consumer detection and acceptability of reduced-sodium bread. *Public Health Nutrition* 2014;18(8):1412-1418.
- Mazzeo, T., Cauzzi, S., Brighenti, F., Pellegrini, N. 2015. The development of a database of gluten-free products. *Publ Health Nutr* 2015;18(8):1353-1357. doi: 10.1017/S1368980014001682
- Mhurchu, C.N., Capelin, C., Dunford, E.K., Webster, J.L., Neal, Bruce. C., Jebb, S.A. 2011. Sodium content of processed foods in the United Kingdom: Analysis of 44,000 foods purchased by 21,000 households. *American Journal of Clinical Nutrition* 2011;93:594-600.
- Perk, J., De Backer, G., Gohlke, H. et al. 2012. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur. Heart J.* 2012;33:1635-1701. <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehs092>
- Pflaum, T., Konitzer, K., Hofmann, T., Koehler. 2013. Analytical and sensory studies on the release

of sodium from wheat bread crumb. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2013;61:6485-6494.

Rada Európskej únie, 2010. Notices from European union institutions, bodies, offices and agencies. Council conclusions of 8 June 2010 on 'Action to reduce population salt intake for better health' – adoption of the conclusions. 2010/C 305/04. Off. J. Eur. Union C 305/5. Dostupné na: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:C:2010:305:0003:0005:EN:PDF>

Riccardi, G., Rivellese, A.A., Williams, CH.M. 2011. The Cardiovascular System. In Lanham-New, A.A., Macdonald, I.A., Roche H.M. *Nutrition and Metabolism*. 2nd edition. The Nutrition Society, 2011. ISBN 978-1-4051-6808-3.

Rødbotten, M., Tomic, O., Holtekjølén, A.K., Grini, I.S., Lea, P., Granli, B.S. et al. 2015. Barley bread with normal and low content of salt; sensory profile and consumer preference in five European countries. *Journal of Cereal Science* 2015;64:176-182.

Spina, A., Brighina, S., Muccilli, S., Mazzaglia, A., Rapisarda, P., Fallico, B. et al. 2015. Partial replacement of NaCl in bread from durum wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. durum Desf.) with KCl and yeast extract: Evaluation of quality parameters during long storage. *Food and Bioprocess Technology* 2015;8(5):1089-1101.

Svačina, Š., Bretšnajdrová, A. 2008. Dieta při osteoporóze a vápník v dietě. In Svačina et al. 2008. *Klinická dietologie*. Praga: Grada Publishing, a.s. 384 s. ISBN 978-80-247-2256-6.

Turner, K.M., Clifton, P.M., Keogh, J.B. 2015. Sodium and potassium excretion are related to bone mineral density in women with coeliac disease. *Clinical Nutrition* 2015;34:265-268. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2014.04.001>

URL 1 <https://www.laboratornadiagnostika.sk/pre-lekarov/toxikologia/referencnehodnoty>

WHO, 2006. Reducing Salt Intake in Populations. Report of a WHO Forum and Technical Meeting. WHO Forum on Reducing Salt Intake in Populations: Paris, France. 978 92 4 159537 7. Dostupné na: http://www.who.int/dietphysicalactivity/Salt_Report_VC_april07.pdf

WHO, 2012. Guideline: Sodium intake for adults and children. Geneva. Dostupné na:

http://www.who.int/nutrition/publications/guidelines/sodium_intake_printversion.pdf

PodĎakovanie

Táto práca vznikla s podporou **Únie priemyselných pekárov SR, Grantovej agentúry SPU v Nitre: 01-GA SPU-17** a s podporou Výskumného centra AgroBioTech vybudovaného v rámci projektu Vybudovanie výskumného centra „AgrobioTech“ (ITMS 26220220180) a projektu VEGA 1/0364/15.

Kontaktná adresa

Ing. Martina Gažarová, PhD.

SPU v Nitre, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov

Katedra výživy ľudí

Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra,

e-mail: martina.gazarova@gmail.com

Citlivosť metód Delvotest SP a Twinsensor B voči vybraným antibiotikám

The Sensitivity of Delvotest SP and Twinsensor B to selected antibiotics

Golian, J., Lovíšková, B., Belej, Ľ., Šnirc, M.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

V práci sme potvrdili, že metóda Delvotest SP deteguje viacero skupín antibiotík ako Twinsensor BT. Detekčné limity metód sú vo väčšine prípadov pod hladinou maximálneho reziduálneho limitu, avšak niektoré antibiotiká sú schopné detegovať nad hladinou maximálneho reziduálneho limitu. Delvotest SP má dlhšiu inkubačnú dobu a je vhodný pre prvovýrobcov, spracovateľov mlieka a pre laboratória kontrolujúce mlieko. Twinsensor BT má kratšiu inkubačnú dobu a je schopný rozlíšiť, či sú prítomné tetracyklínové alebo β -laktámové antibiotiká. V porovnaní s Delvotest SP je Twinsensor BT vhodný pre prvovýrobcov mlieka. Avšak medzi metódami Delvotest SP a Twinsensor BT nie je štatisticky významný rozdiel. Práca má praktický význam pre prevádzky, ktoré chcú zaviesť kontrolu rezíduí antibiotík v mlieku a na optimalizáciu metód, ktoré detegujú prítomnosť rezíduí antibiotík v mlieku.

Abstract

In the work, we confirmed that the method Delvotest SP method detects more antibiotic groups than Twinsensor BT. The detection limits of the methods are in most cases below the maximum residual limit, but with some antibiotics, they are able to detect above the maximum residual limit. Delvotest SP has longer incubation time and is suitable for primary producers, milk processors and milk-controlling laboratories. Twinsensor BT has shorter incubation time and is capable of distinguishing whether tetracycline or β -lactam antibiotics are present. Compared to Delvotest SP, Twinsensor BT is suitable for primary milk producers. However, there is no statistically significant difference between Delvotest SP and Twinsensor BT. This work has practical importance for organisations that want to introduce the control of antibiotic residues in milk and for the optimization of methods that detect the presence of antibiotic residues in milk.

Keywords: *antibioticum, milk, detection, Delvotest SP, Twinsensor BT*

Úvod

Na zistenie prítomnosti antibiotík v mlieku sa používajú rôzne detekčné metódy. Podľa princípu ich rozdeľujeme na biologické, imuno-enzymatické a fyzikálno-chemické. Ak poskytujú informáciu, že antibiotikum je v mlieku prítomné alebo neprítomné, jedná sa o kvalitatívne metódy. Predaj mlieka od kráv, ktoré boli liečené antibiotikami a neboli dodržané ochranné lehoty je v rozvinutých krajinách zakázaný. Preto sa mlieko testuje na prítomnosť rezíduí antibiotík (Olatoye et al., 2016). Výber metódy, ktorá sa používa na detekciu antibiotík v mlieku zvyčajne závisí od typu cieleného antibiotika, predpokladaných časových obmedzení, selektivity a nákladov. Tieto metódy môžu byť kvalitatívne a kvantitatívne (Forouzan et al., 2014). Screeningové testy sú prvé metódy, ktoré sa používajú v programoch kontroly RIL, ich cieľom je stanoviť prítomnosť alebo neprítomnosť týchto rezíduí vzhľadom ku stanoveným MRL. Screeningové metódy sú

definované ako metódy poskytujúce presné a spoľahlivé informácie, že analyt, ktorý je predmetom záujmu, nie je vo vzorke prítomný v nebezpečných alebo nepovolených koncentráciách. Pri plošnom monitorovaní RIL v mlieku sú všeobecne najviac využívané selektívne rýchlotesty a širokospektrálne rýchlotesty (Navrátilová et al., 2013). Screeningové metódy sa všeobecne vykonávajú mikrobiologickými, enzymatickými a imunologickými testami. Najskoršie screeningové metódy používané na detekciu rezíduí antibiotík v potravinách, vrátane mlieka, boli založené na detekcii inhibície rastu rôznych bakteriálnych kmeňov dokázaných mikrobiálnymi agarovými difúznymi testami alebo inhibíciou produkcie kyseliny štartovacími mikroorganizmami (Chowdhury et al., 2015). Delvotest SP je jedným z najznámejších testov, ktorý sa vyvinul v 70-tych rokoch minulého storočia ako technológia Delvotest P, ktorá bola určená na detekciu β -laktámov. Delvotest SP sa používa v dvoch verziách, vo verzii ampulky, ktorá je určená na individuálne testy alebo testy v malom rozsahu, zatiaľ čo verzia s mikrotitračnou doštičkou je navrhnutá na hromadné testovanie, kedy je možné vykonať až 96 testov súčasne (Ali et al., 2017). Kalidos MP a TB sú testy inhibície mikrobiálneho rastu, definované ako testy vysokej citlivosti na kontrolu kvality mlieka. Testy sú rýchle, spoľahlivé a ľahko použiteľné (Euroclone, 2017). Twinsensor BT je receptorový test vo forme prúžkov, ktorý je určený na detekciu β -laktámových a tetracyklínových antibiotík vo vzorkách mlieka. Medzi základné výhody testu zaradujeme detekciu dvoch skupín antibiotík v jednom teste. Twinsensor BT je schopný detegovať antibiotiká v surovom, pasterizovanom, UHT mlieku, v ovčom a kozom mlieku. Výsledky sú presné, spoľahlivé a schválené medzinárodnými laboratóriami (MAYASAN Food Industries, 2018). Imunoanalýzy sú široko používané metódy pre rutinnú analýzu veterinárnych liečiv vo veľkom počte vzoriek. Analytické metódy na báze protilátok, predovšetkým enzýmovo viazané imunosorbentné testy, ako napr. ELISA, sú užitočné, rýchle a citlivé nástroje na dôkaz prítomnosti rezíduí veterinárnych liečiv (Jiang et al., 2016).

Cieľom práce bolo porovnať detekčné limity metód Delvotest SP a Twinsensor BT s maximálnymi reziduálnymi limitmi pre mlieko.

Materiál a metodika

Prvou metódou, ktorou sme detegovali prítomnosť antibiotík v mlieku bol Delvotest SP, pričom sme postupovali podľa pokynov výrobcu DSM Food Specialities a podľa normy STN 57 0531: Dôkaz a stanovenie antibiotík a sulfónamidov v mlieku a tepelne ošetrovanom mlieku. Princíp metódy Delvotest SP spočíva v tom, že k agaru obsahujúcemu pH indikátor a spóry *Geobacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* citlivé na penicilín sa pridá vzorka mlieka. Počas inkubácie dochádza k rastu a produkcii kyselín skúšobného mikroorganizmu *Geobacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*. Vďaka tomu pH indikátor zmení svoje sfarbenie. Pri analyzovaní vzoriek metódou Twinsensor BT00660 od firmy UNISENSOR sme postupovali podľa pracovného postupu Prítomnosť rezíduí beta-laktámových antibiotík a tetracyklínov metódou Twinsensor, ktorý vypracovala Hofericová (2016). Twinsensor BT00660 je receptorový test vo forme ponorného prúžku. Je určený na rýchle stanovenie β -laktámových a tetracyklínových rezíduí antibiotík, ktoré sú prítomné vo vzorkách surového kravského, ovčieho a kozieho mlieka.

Výsledky a diskusia

Citlivosť analytickej metódy je najmenšia koncentrácia analyzovanej látky, ktorá je pomocou danej metódy odlišiteľná od nulovej koncentrácie. Detekčná schopnosť metódy je najnižší obsah látky, ktorý môže byť vo vzorke stanovený. Maximálny reziduálny limit (MRL) je horná hranica koncentrácie určitej látky, ktorá je legislatívou povolená v matici. Maximálny reziduálny limit pre každé antibiotikum je uvedené v Nariadení komisie (EÚ) č. 37/2010 o farmakologicky účinných látkach a ich klasifikácii. Maximálny reziduálny limit je vyjadrený v mg.kg^{-1} alebo $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

Tabuľka 1: Porovnanie detekčných limitov antibiotík metódami Delvotest SP a Twinsensor BT a maximálnych reziduálnych limitov (v $\mu\text{g.kg}^{-1}$)

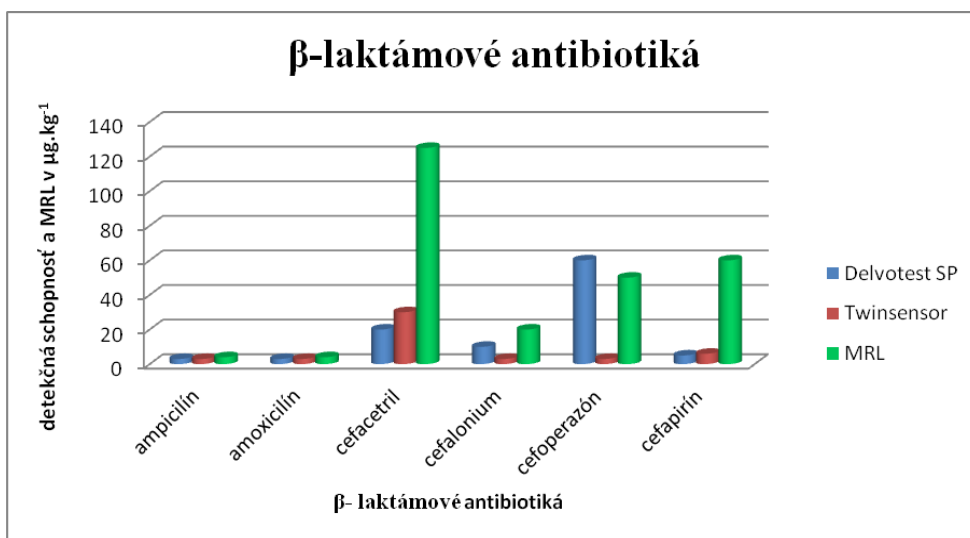
Antibiotikum	Delvotest SP	Twinsensor BT	MRL
<i>β-laktámy</i>	-	-	-
amoxicilín	3 – 5	3 – 5	4
ampicilín	3 – 5	3 – 5	4
benzylpenicilín	-	2 – 3	4
cefacetril	20 – 40	30 – 40	125
cefalexin	60 – 100	-	100
cefalonium	10 – 25	3 – 5	20
cefazolin	-	18 – 22	50
cefapirín	5 – 10	6 – 8	60
cefoperazón	60 – 100	3 – 4	50
ceftiofur	50 – 70	10 – 15	100
cloxacilín	15 – 25	6 – 8	4
dicloxacilín	10 – 15	6 – 8	30
penicilín	2,5	-	4
oxacilín	10	12 – 18	30
nafcilín	5-10	30 – 40	30
<i>tetracyklíny</i>	-	-	-
chlórtetracyklín	200 – 600	25 – 30	100
oxytetracyklín	200 – 500	30 – 40	100
tetracyklín	200 – 600	40 – 50	100

Zdroj: vlastné spracovanie

Detekčná schopnosť ampicilínu a amoxicilínu pri metóde Delvotest SP a Twinsensor BT je rovnaká, čo je $3\text{--}5 \mu\text{g.kg}^{-1}$, pričom maximálny reziduálny limit je $4 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Z toho vyplýva, že obidve menované metódy sú schopné detegovať ampicilín a amoxicilín pod hladinou maximálneho reziduálneho limitu uvedeného v európskej legislatíve.

Detekčná schopnosť cefacetrilu je metódou Delvotest SP a Twinsensor BT rozdielna, pričom metóda Delvotest SP deteguje cefacetril pri hladine $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$ a Twinsensor BT pri množstve $30 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Maximálny reziduálny limit cefacetrilu podľa európskej legislatívy je $125 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Z toho vyplýva, že metóda Delvotest SP je schopná rozlíšiť menšie množstvo cefacetrilu, ktorý je prítomný vo vzorke mlieka ako metóda Twinsensor BT. Avšak obidve uvedené metódy sú schopné detegovať prítomnosť cefacetrilu pod hladinou maximálneho reziduálneho limitu.

Detekčná schopnosť cefalonium je u oboch metód rozdielna, pričom metóda Delvotest SP je schopná detegovať $10 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ cefalonium a metóda Twinsensor BT $3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Maximálny reziduálny limit pre cefalonium je $20 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Z grafu č. 1 vyplýva, že metóda Twinsensor BT je schopná zachytiť prítomnosť menšieho množstva cefalonium ako metóda Delvotest SP. Obidve metódy detegujú cefalonium v koncentrácii menšej ako je maximálny reziduálny limit.



Zdroj: vlastné spracovanie

Graf 1: Porovnanie detekčných limitov vybraných β -laktámových antibiotík metódou Delvotest SP a Twinsensor SP a maximálnych reziduálnych limitov (v $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)

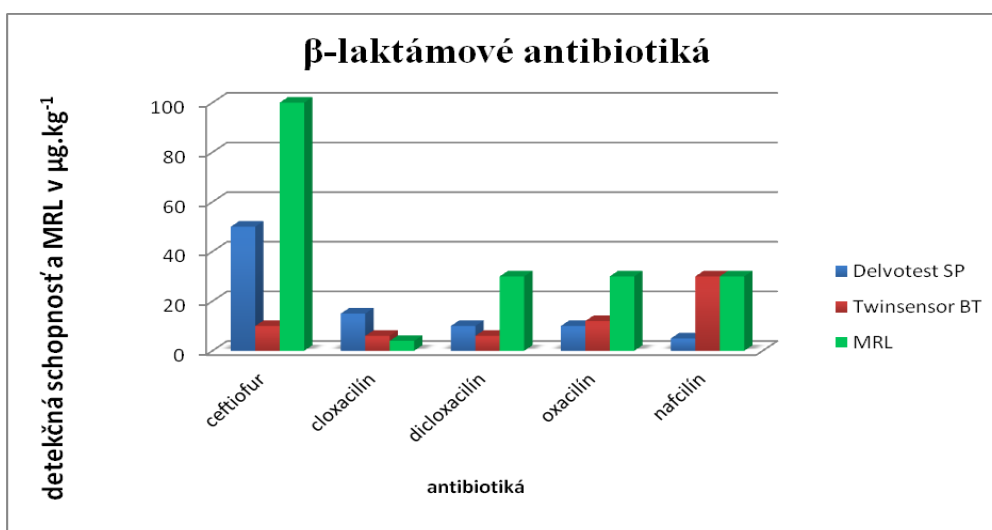
Detekčná schopnosť cefoperazónu je u metód Delvotest SP a Twinsensor SP výrazne rozdielna, pričom Delvotest SP deteguje až $60 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ cefoperazónu v mlieku. Twinsensor BT deteguje len $3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ cefoperazónu v mlieku. Podľa Nariadenia komisie (EÚ) č. 37/2010 je maximálny reziduálny limit cefoperazónu $50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Z toho vyplýva, že Twinsensor BT deteguje dané antibiotikum pod hladinou maximálneho reziduálneho limitu, avšak metóda Delvotest SP deteguje prítomnosť cefoperazónu nad povolenou hranicou $50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Detekčná schopnosť cefapirínu je pri metóde Delvotest SP a Twinsensor BT rozdielna len o minimum, pričom Delvotest SP je schopný rozpoznať už $5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ cefapirínu a Twinsensor BT $6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ cefapirínu v mlieku. Maximálny reziduálny limit cefapirínu je $60 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Z uvedeného vyplýva, že metóda Delvotest SP deteguje menšie množstvo cefapirínu v mlieku. Metódy Delvotest SP a Twinsensor BT detegujú cefapirín v menšej koncentrácii ako je maximálny reziduálny limit pre cefapirín.

Ako vidíme z grafu č. 2, detekčná schopnosť ceftiofuru oboch metód je výrazne rozdielna. Delvotest SP je schopný rozpoznať $50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ceftiofuru. Twinsensor BT rozpoznáva $10 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ceftiofuru. Podľa príslušnej európskej legislatívy je maximálny reziduálny limit ceftiofuru $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Z uvedeného vyplýva, že Twinsensor BT má nižší detekčný limit ceftiofuru ako Delvotest SP, avšak obidve metódy detegujú prítomnosť ceftiofuru pod hladinou maximálneho reziduálneho limitu.

Detekčná schopnosť cloxacilínu pri metóde Delvotest SP je $15 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, pričom pri metóde Twinsensor BT $6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Maximálny reziduálny limit pre cloxacilín je $4 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Z toho vyplýva, že Twinsensor BT deteguje nižšiu koncentráciu cloxacilínu

v mlieku ako Delvotest SP, avšak obidve metódy sú schopné detegovať množstvo cloxacilínu nad hladinou maximálneho reziduálneho limitu.



Zdroj: vlastné spracovanie

Graf 2: Porovnanie detekčných limitov vybraných β-laktámových antibiotík metódou Delvotest SP a Twinsensor SP a maximálnych reziduálnych limitov (v $\mu\text{g.kg}^{-1}$)

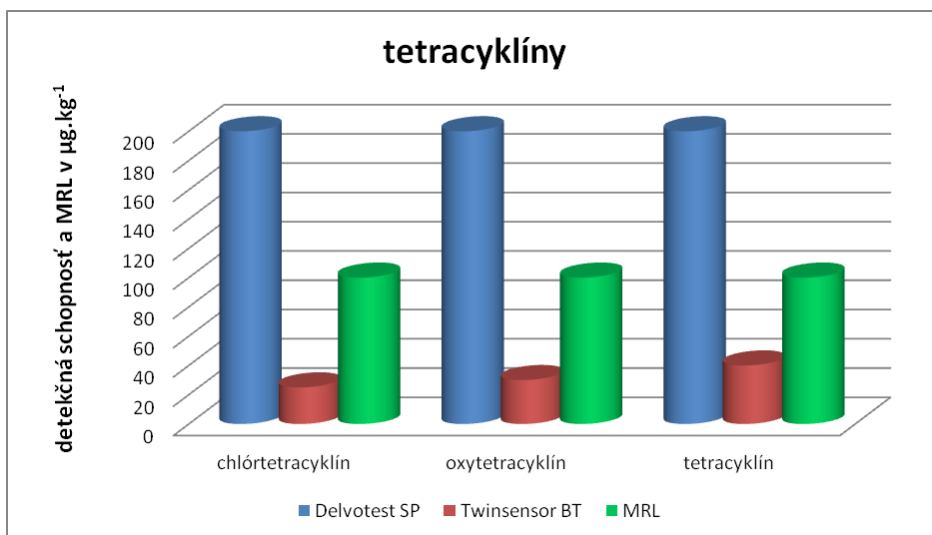
Detekčná schopnosť dicloxacilínu pri metóde Delvotest SP je $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$, pričom detekčná schopnosť pri metóde Twinsensor BT je $6 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Maximálny reziduálny limit dicloxacilínu je $30 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Twinsensor je schopný zachytiť menšiu koncentráciu dicloxacilínu vo vzorke mlieka ako Delvotest SP, avšak obidve metódy sú schopné zachytiť menšiu hladinu prítomného antibiotika ako je maximálny reziduálny limit.

Ako vidíme z grafu č. 2, Delvotest SP je schopný detegovať $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ oxacilínu a Twinsensor BT je schopný detegovať $12 \mu\text{g.kg}^{-1}$ oxacilínu, pričom maximálny reziduálny limit pre oxacilín je $30 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Z uvedeného vyplýva, že Delvotest je schopný detegovať nižšiu koncentráciu oxacilínu ako Twinsensor, avšak obidve uvedené metódy sú schopné detegovať oxacilín pod hladinou maximálneho reziduálneho limitu.

Metóda Delvotest SP je schopná detegovať $5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ nafcilínu a Twinsensor je schopná detegovať $30 \mu\text{g.kg}^{-1}$ nafcilínu, pričom maximálne reziduálny limit nafcilínu je $30 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Ako vidíme z grafu č. 2, Delvotest SP deteguje menšie množstvo nafcilínu v porovnaní s Twinsensorom. Delvotest nafcilín deteguje pod hladinou maximálneho reziduálneho limitu a Twinsensor deteguje rovnaké množstvo nafcilínu ako je maximálny reziduálny limit.

Ako vidíme z grafu č. 3, Delvotest SP a Twinsensor BT majú výrazne odlišnú schopnosť detegovať chlór tetracyklín. Detekčná schopnosť chlór tetracyklínu pri metóde Delvotest SP je $200 \mu\text{g.kg}^{-1}$ a pri metóde Twinsensor BT $25 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Ako vidíme z grafu č. 3, Twinsensor BT je schopný rozpoznať nižšiu koncentráciu chlór tetracyklínu ako Delvotest SP. Maximálny reziduálny limit chlór tetracyklínu, ktorý je uvedený v európskej legislatíve je $100 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Napriek tomu, že metóda Twinsensor BT je schopná rozlíšiť nižšiu koncentráciu ako je maximálny reziduálny limit, metóda Delvotest SP je schopná rozlíšiť až dvojnásobne vyššiu koncentráciu ako je maximálny reziduálny limit.

Rovnako ako pri chlór tetracyklíne, detekčná schopnosť oxytetracyklínu pri oboch menovaných metódach je výrazne odlišná. Delvotest SP je schopný rozpoznať až $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ oxytetracyklínu a Twinsensor BT už $30 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ oxytetracyklínu. Maximálny reziduálny limit oxytetracyklínu je $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Z uvedeného vyplýva, že Twinsensor BT je schopný detegovať oxytetracyklín pod hladinou maximálneho reziduálneho limitu, avšak metóda Delvotest SP deteguje dvojnásobne vyššiu koncentráciu oxytetracyklínu ako je maximálny reziduálny limit.



Zdroj: vlastné spracovanie

Graf 3: Porovnanie detekčných limitov tetracyklínov metódou Delvotest SP a Twinsensor BT a maximálnych reziduálnych limitov (v $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)

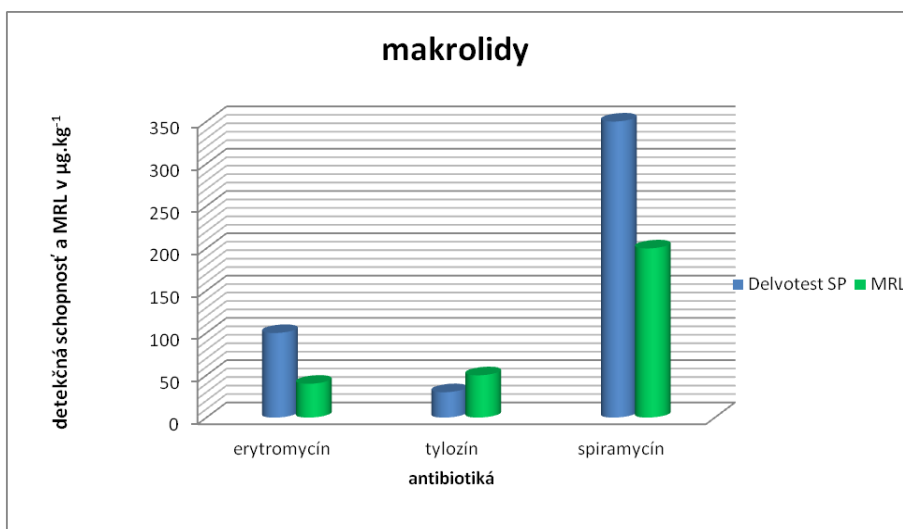
K podobným výsledkom sme dospeli aj pri tetracyklíne, keďže detekčná schopnosť tetracyklínu pri metóde Delvotest SP je rovnako $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ a pri metóde Twinsensor BT $40 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Maximálny reziduálny limit je $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. To znamená, že metóda Twinsensor BT je schopná detegovať tetracyklín pod hladinou maximálneho reziduálneho limitu, avšak metóda Delvotest SP je schopná detegovať až dvojnásobne vyššiu koncentráciu ako je maximálny reziduálny limit tetracyklínu.

Ako sme zistili, schopnosť detegovať prítomnosť zvyškov antibiotík je u metód Delvotest SP a Twinsensor BT rozdielna. Nedá sa jednoznačne určiť, ktorá z uvedených metód deteguje nižšie koncentrácie zvyškov antibiotík. Avšak uvedené metódy sú schopné rozlíšiť niektoré rezíduá antibiotík až pri koncentrácii vyššej ako je maximálny reziduálny limit, čo môže byť, či už pre prvovýrobcov a spracovateľov mlieka problém. Takisto je to problematické z hľadiska zdravotnej bezpečnosti spotrebiteľa, nakoľko dlhodobý a častý príjem malej koncentrácie antibiotík môže byť veľkým zdravotným rizikom pre spotrebiteľa.

Ako sme uviedli v predchádzajúcej časti, metóda Delvotest SP je schopná detegovať niektoré typy antibiotík, ktoré metóda Twinsensor BT nie je schopná rozlíšiť. Aj pre tieto skupiny antibiotík sme porovnávali detekčné limity metódy Delvotest SP s maximálnymi reziduálnymi limitmi.

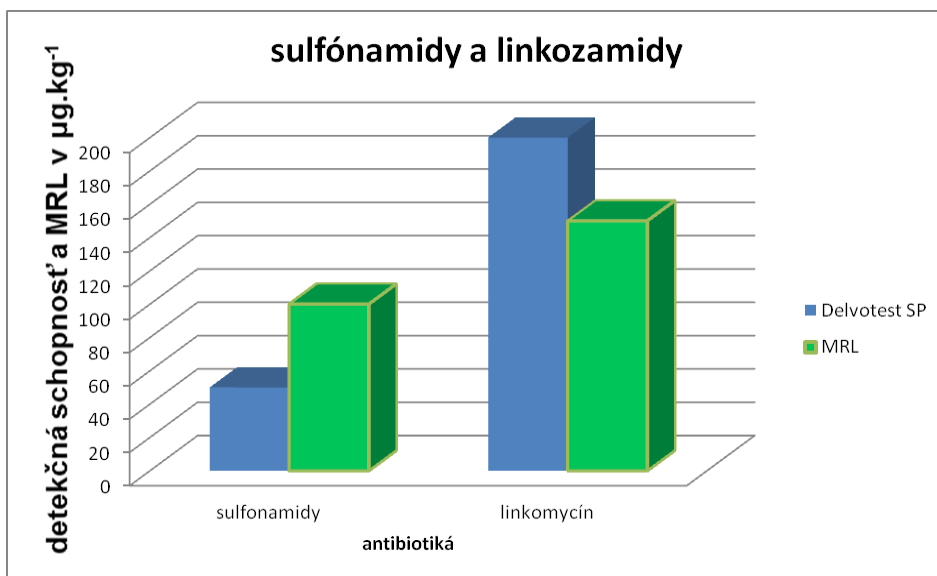
Detekčný limit erytromycínu je pri metóde Delvotest SP $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, pričom maximálny reziduálny limit pre erytromycín je $40 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Z grafu č. 4 vyplýva, že metóda Delvotest SP je schopná zistiť prítomnosť erytromycínu v koncentrácii väčšej ako je povolená hranica. Detekčný limit pre tylozín metódou Delvotest SP je $30 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Maximálny reziduálny limit pre tylozín podľa Nariadenia komisie (EÚ) č. 37/2010 je $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Z uvedeného vyplýva, že metóda Delvotest SP je schopná detegovať tylozín pod hranicou maximálneho reziduálneho limitu. Metóda Delvotest SP je schopná zistiť prítomnosť spiramycínu pri koncentrácii $350 \mu\text{g.kg}^{-1}$, pričom maximálny reziduálny limit je $200 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Z uvedeného vyplýva, že Delvotest SP je schopný zistiť prítomnosť spiramycínu vo vzorke mlieka v koncentrácii vyššej ako je maximálny reziduálny limit.



Zdroj: vlastné spracovanie

Graf 4: Porovnanie detekčného limitu Delvotest SP a maximálneho reziduálneho limitu pre makrolidy (v $\mu\text{g.kg}^{-1}$)



Zdroj: vlastné spracovanie

Graf 5: Porovnanie detekčného limitu Delvotest SP a maximálneho reziduálneho limitu pre sulfónamidy a linkozamidy (v $\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Detekčný limit sulfónamidov metódou Delvotest SP je $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$, pričom maximálny reziduálny limit je $100 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Z uvedených výsledkov vyplýva, že metóda Delvotest SP deteguje prítomnosť sulfónamidov pod hranicou maximálneho reziduálneho limitu. Naopak, linkozamidy deteguje metóda Delvotest SP nad hranicou maximálneho

reziduálneho limitu, pretože detekčná schopnosť testu je $200 \mu\text{g.kg}^{-1}$ a maximálny reziduálny limit je len $150 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

Ako sme v predchádzajúcej časti uviedli, Delvotest SP nie je schopný detegovať benzylpenicilín a cefazolín v porovnaní s metódou Twinsensor. Detekčný limit benzylpenicilínu metódy Twinsensor BT je $2 \mu\text{g.kg}^{-1}$, pričom maximálny reziduálny limit pre benzylpenicilín, ktorý je uvedený v Nariadení komisie (EÚ) č. 37/2010 je $4 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Z uvedeného vyplýva, že Twinsensor BT je schopný detegovať benzylpenicilín pod hladinou maximálneho reziduálneho limitu. Takisto Twinsensor BT je schopný detegovať cefazolín, pričom Delvotest SP nie je schopný toto antibiotikum zistiť vo vzorke mlieka. Detekčný limit testu je $18 \mu\text{g.kg}^{-1}$, pričom maximálny reziduálny limit pre cefazolín je $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

Delvotest SP deteguje cefalexín a penicilín, pričom Twinsensor BT nie je schopný zistiť prítomnosť uvedených rezíduí antibiotík v mlieku. Detekčný limit testu je $2,5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ a maximálny reziduálny limit pre penicilín, ktorý je uvedený v príslušnej legislatíve je $4 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Z uvedeného vyplýva, že Delvotest SP deteguje penicilín pri koncentrácii nižšej ako je maximálny reziduálny limit. Detekčný limit cefalexínu metódou Delvotest SP je $60 \mu\text{g.kg}^{-1}$, pričom maximálny reziduálny limit cefalexínu pre mlieko je $100 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

Diskusia

Štandardizované platňové metódy detegujú antibakteriálne látky za použitia citlivých bakteriálnych kmeňov. Platňové metódy umožňujú identifikáciu inhibičných látok, ktorá sa uskutočňuje ako agarový difúzny test (**Hanuš et al., 2012**).

Ideálna metóda skríningu by detegovala väčšinu, resp. všetky antimikrobiálne látky na alebo pod ich maximálnymi limitmi rezíduí (**Perme et al., 2010**).

Podľa **Perme et al. (2010)** je Twinsensor BT ľahko použiteľný, s veľmi krátkou inkubačnou dobou (6 minút), robustnou a citlivou na všetky β -laktámové a tetracyklínové antibiotiká pri nižších koncentráciách ako sú maximálne limity rezíduí EÚ, s výnimkou nafcilínu.

Výsledky našej práce však ukazujú, že Twinsensor BT nie je citlivý na všetky β -laktámové antibiotiká, pretože nedeteguje napr. cefalexín a penicilín v porovnaní s metódou Delvotest SP. Takisto sa naše výsledky nezhodujú so zistením, že Twinsensor BT deteguje zvyšky antibiotík pri nižších koncentráciách ako sú maximálne limity rezíduí, ktoré sú uvedené v príslušnej legislatíve. Detekčný limit nafcilínu je v rozmedzí od 30 do $40 \mu\text{g.kg}^{-1}$ a maximálny reziduálny limit je $30 \mu\text{g.kg}^{-1}$, takže Twinsensor je schopný detegovať nafcilín buď na hranici maximálneho reziduálneho limitu, alebo v zhode s uvedenou prácou až nad maximálnym reziduálnym limitom. Avšak metóda Twinsensor BT je schopná detegovať cloxacilín pri koncentrácii $6-8 \mu\text{g.kg}^{-1}$ a maximálny reziduálny limit je $4 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

Delvotest SP má dlhšiu inkubačnú dobu (3 hodiny) a je menej citlivý na oxytetracyklín, ale môže detegovať širokú škálu ďalších antimikrobiálnych látok, väčšinou na alebo pod MRL EÚ (**Perme et al., 2010**).

V prípade výsledkov Delvotest SP sa naša práca zhoduje so zistením, že Delvotest SP je menej citlivý na oxytetracyklín, resp. všetky tetracyklínové antibiotiká, pretože detekčná schopnosť metódy zachytiť uvedené antibiotiká je pri koncentrácii $200 \mu\text{g.kg}^{-1}$, v porovnaní s metódou Twinsensor, ktorá je schopná zachytiť $25-50 \mu\text{g.kg}^{-1}$ tetracyklínov, pričom maximálny reziduálny limit tetracyklínov je $100 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Preto nemôžeme súhlasiť so zistením, že Delvotest SP deteguje antibiotiká

na alebo pod hladinou maximálneho reziduálneho limitu, rovnako ako u dvoch β -laktámových antibiotík a to cefoperazónu, cloxacilínu. Štúdia, ktorú vykonal **Perme et al. (2010)** ukázala, že Twinsensor má nižšiu schopnosť rozpoznať amoxicilín a zľú schopnosť detegovať reziduá nafcilínu, doxycyklínu a cefalexínu v mlieku. Rovnako aj s týmto zistením nemôžeme súhlasiť, nakoľko detekčná schopnosť metód Delvotest SP a Twinsensor BT je rovnaká, a to 3-5 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Avšak súhlasíme so zistením, že metóda Twinsensor BT má zľú schopnosť detegovať nafcilín a cefalexín v mlieku.

Obidva testy dokážu tieto látky detegovať v koncentrácii nižšej ako MRL (okrem Delvotest SP, ktorá detekuje oxytetracyklín na úrovni dvakrát až trikrát vyššej ako je MRL) (**Perme et al., 2010**).

Ako sme už uviedli v predchádzajúcich výsledkoch, obidve metódy detegujú niektoré antibiotiká nad úrovňou maximálneho reziduálneho limitu, a to u všetkých tetracyklínových antibiotík (oxytetracyklínu, chlór tetracyklínu a tetracyklínu) a z β -laktámových antibiotík ceftiofuru a cloxacilínu metódou Delvotest SP. Metóda Twinsensor deteguje cloxacilín nad hranicou maximálneho reziduálneho limitu.

Záver

Delvotest SP je širokospektrálny semikvantitatívny test, ktorý deteguje viacero skupín antibiotík. Okrem β -laktámov a tetracyklínov deteguje makrolidy, linkozamidy, chloramfenikol, dapson atď. Delvotest SP má inkubačnú dobu 3 hodiny a môžeme analyzovať viacero vzoriek v jednom stanovení. Vyhodnotenie je vizuálne alebo pomocnou DelvoScanu. Je vhodný pre všetky prevádzky v dodávateľskom reťazci. Twinsensor BT je selektívny kvalitatívny rýchlotest, ktorý deteguje β -laktámy a tetracyklíny. Výsledky sú k dispozícii do šiestich minút, pričom môžeme stanoviť menej vzoriek (maximálne 8) v jednej analýze. Vyhodnotenie je vizuálne, alebo Read Sensorom. Hlavnou výhodou testu je, že v prípade pozitívnych vzoriek test rozlíši, či sú prítomné tetracyklíny alebo β -laktámy. Nevýhodou je, že nie je vhodný pre všetky prevádzky. Napriek tomu, že medzi metódami Delvotest SP a Twinsensor BT sú rozdiely v špecificite a citlivosti, štatisticky významný rozdiel medzi uvedenými metódami nie je.

Literatúra

- Ali, S. M., Vahid, H., Shokooh, Z. 2017. Detection of antibiotic residues in raw milk in Mashad by Delvo-test. In *Biotechnology An Indian Journal* [online], vol. 11, no. 1, pp. 1 - 4. ISSN 0974-7435. Dostupné na internete: <http://www.tsijournals.com/abstract/detection-of-antibiotic-residue-in-raw-milk-in-mashad-by-delvotest-2055.html>
- EUROCLONE. 2017. *Antibiotici nel latte? Basta to sguardo* [on-line], © 2018. Dostupné na internete: <https://www.euroclonogroup.it/documents/news/EurocloneTestLatte.pdf>
- Forouzan, S., Rahimirad, A., Seyedkoei, R., Asadzadeh, J., Bahmani, M. 2014. Determination of antibiotic residues in the pasteurized milk produced in West Azerbaijan province, North West of Iran. In *Journal of Coastal Life Medicine* [online], vol. 2, no. 4, pp. 297 – 301. ISSN 2309-6152. doi: 10.12980/JCLM.2.201414J8
- Hanuš, O., Vyletelová, M., Jeřábková, J. 2012. Kontrola jakosti mléka: Kontrola RIL. In *Mléko: Produkce a kvalita*. České Budějovice: JU ZF, pp. 196-203. ISBN 978-80-7394-383-7

Hofericová, M. 2016. *Přítomnost reziduí β -laktamových antibiotik a tetracyklinov v mlieku metódou Twinsensor BT: pracovný postup*. Žilina: Výskumný ústav mliekarensky, 9 s.

Chowdhury, S., Hassan, M. M., Alam, M., Sattar, S., Bari, S. M., Saifuddin, M. K. A., Hoque, A. M. 2015. Antibiotic residues in milk and eggs of commercial and local farms at Chittagon, Bangladesh. In *Veterinary World* [online], vol. 8, no. 4, pp. 467 – 471. ISSN 2231-0916. doi: 10.14202/vetworld.2015.467-471

Jiang, W., Beier, R., Luo, P., Zhai, P., Wu, N., Lin, G., Wang, C., Xu, G. 2016. Analysis of Pirlimycin Residues in Beet Muscle, Milk, and Honey by a Biotin-Streptavidin-Amplified Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online], vol. 64, no. 1, pp. 364 – 370. ISSN 1520-5118. doi: 10.1021/acs.jafc.5b05711

Mayasan Food Industries. 2018. *Twinsensor BT Rapid Antibiotic Test Kit* [on-line], © 2018. Dostupné na internete: <http://www.mayasan.com/content/view/257/227/lang,en/>

Navrátilová, P., Vyhnálková, J., Jeřábková, J. 2013. Širokospektrální testy schválení v ČR pro stanovení RIL v syrovém kravském mléce. In *Mlékařské listy* [online], vol. 2013, no. 140, pp. 1 – 3. ISSN 1212-950X. Dostupné na internete: <http://www.mlekarskelisty.cz/archiv/rok-2013.html>

Otaloye, O. I., Daniel, F. O., Ishola, A. S. 2016. Screening of antibiotics and chemical analysis of penicillin residue in fresh milk and traditional dairy products in Oyo State, Nigeria. In *Veterinary World* [online], vol. 9, no. 9, pp. 948 – 954. ISSN 2231-0916. doi: 10.14202/vetworld.2016.948.954

Perme, T., Bizjak, M., Gačnik, Š. K., Kirbiš, A. 2010. Validation of Twinsensor BT, Screening test for detection of β -lactams and tetracyclines in milk, and comparison to Delvotest SP. In *Slovenian Veterinary Research* [online], vol. 47, no. 3, pp. 97 – 106. ISSN 1580-4003. Dostupné na internete: <https://www.researchgate.net/publication/224827822>

Validation_of_TwinsensorBT_screening_test_for_the_detection_of_betalactams_and_tetracyclines_in_milk_and_comparison_to_DelvotestR_SP-NT

Kontaktná adresa

prof. Ing. Jozef Golian, Dr.
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín
FBP SPU v Nitre
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
e-mail: Jozef.Golian@uniag.sk

Čajové alternativy z pohledu obsahu polyfenolů

Tea substituents from the point of view on polyphenol content

Hodulová, L., Bartlová, M., Tremlová, B.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Výluhy z bylin se používají jako alternativy k pravým čajům. Na trhu se vyskytuje nespočetné množství bylin, které je možno využít přímo k přípravě čaje nebo k přípravě čajové směsi podle vyhlášky č. 330/1997 Sb. Cílem práce bylo stanovení celkových polyfenolů (CP) ve vodních nálevech tří bylin - verbena (*Lippia citriodora*), „řecký horský čaj“ (*Sideritis syriaca*, L.) citrónová tráva (*Cymbopogon citratus*) a z listů olivovníku (*Olea europaea*). Nejvyšší obsah polyfenolů byl zjištěn u verbeny, a to 33,19 mg GAE/g. Řecký horský čaj a citrónová tráva obsahovali porovnatelný obsah CP (9,24 a 8,36 mg GAE/g). Nejnížší hodnota byla naměřena ve výluhu z olivového listu, a to pouze 7,01 mg GAE/g.

Abstract

The extract of herbs is used as an alternative to the teas from *Camellia sinensis*. There are countless herbs available on the market, which can be used directly to direct tea infusion or to prepare a tea mixture according to Decree No. 330/1997 Coll. The aim of this work was to determine the total polyphenol content (TPC) in water extract of three herbs - verbena (*Lippia citriodora*), “greek mountain tea” (*Sideritis syriaca*, L.), lemon grass (*Cymbopogon citratus*) and olive leaves (*Olea europaea*). The highest content of TPC was found in verbena, 33.1840 mg GAE/g. “Greek mountain tea” and lemon grass contained comparable TPC content (9.24 and 8.36 mg GAE/g), the lowest value was determined in olive leaves extract, only 7.01 mg GAE/g.

Klíčová slova: polyfenoly, rooibos, verbena, citrónová tráva, řecký horský, olivový list

Úvod

Lidé se stále zajímají o přírodní složky potravin a nápojů, které mají pozitivní vliv na lidský organizmus. Mezi tyto biomolekuly patří také skupina polyfenolických látek. Polyfenoly jsou sekundární metabolity rostlin a jejich úkolem je především ochrana rostlinných pletiv proti UV záření a napadení patogenem. V potravinách se podílejí na hořké, svíravé a ostré chuti, barvě, vůni a jejich oxidační stabilitě. Tyto látky zachytávají volné kyslíkové radikály a tím zabraňují poškození buněčných stěn. Mezi hlavní skupiny polyfenolů patří fenolové kyseliny, flavonoidy, stilbeny a v neposlední řadě také liganany, které vznikají z fenylalaninu nebo blízkého prekurzoru - šikimové kyseliny (Lin a kol., 2016; Pandey a Rizvy, 2009). U některých bylin byla kromě pozitivních účinků zjištěna i hepatotoxicita a nefrotoxicita jako např. u listů z olivovníku *Olea europaea* L. (Omer a kol., 2012). Ve starověku byly listy olivovníků využívány k různým účelům a to převážně v kosmetice, ke konzervaci potravin a na podporu zdraví. V dnešní době se olivové listy získávají jako vedlejší produkt z úpravy olivovníků. Kromě potravinářského průmyslu se využívají také v krmivech, v kosmetickém průmyslu, v biomase, a také jako extrakt v potravinových doplňcích (Moudache a kol., 2016; Nunes a kol., 2016). Nejvýznamnější látkou je oleuropein (derivát fenolů), který představuje 8 - 14 % sušiny olivových listů, přičemž biologickou

aktivitu vykazují jeho produkty hydrolýzy (Guinda a kol., 2015). Oleuropein patří mezi antioxidanty, působí antimikrobiálně, protizánětlivě i protinádorově (Baba a kol., 2018). V olivových listech se vyskytují kromě oleuropeinu také další fenolické sloučeniny, jako například verbaskozid, rutin, tyrosol, kyselina kávová a hydroxytyrasol. Druhou nejvýznamnější složkou, která se zde nachází, je manitol, který reprezentuje 3 % celkové sušiny (Guinda a kol., 2015).

Citrónová tráva z rodu *Cymbopogon*, je široce rozšířena v tropických a subtropických regionech Afriky, Asie a Ameriky a zahrnuje 144 druhů. Ke komerčně pěstovaným druhům patří zejména *Cymbopogon flexuosus* a *Cymbopogon citratus*, které se běžně používají v potravinářství. Tradičně se tato rostlina využívá v lidové medicíně k léčbě nervových a gastrointestinálních obtíží, působí antispasmodicky, analgeticky, protizánětlivě a antipyreticky. Kromě léčebných účelů má využití v kosmetickém průmyslu. Citronová tráva se používá také jako koření, má insekticidní účinky a obsahuje velké množství limonenu a derivátů *p*-mentanů, které jsou hlavními komponenty esenciálních olejů (Bassolé a kol., 2011; Avoseh a kol., 2015).

Sideritis syriaca, L. je endemickou rostlinou horských oblastí převážně Řecka, kde se využívá k přípravě tradičního čaje nazývaného „horský čaj“ (Armata a kol., 2008). Název tohoto rodu *Sideritis* L. je odvozen od řeckého slova *Sideros*, které v překladu znamená železo (Gonzalez-Burgos a kol., 2011). Jsou mu přisuzované antimikrobiální vlastnosti, například proti bakterii *Staphylococcus aureus* a v středomořské tradiční medicíně je doporučován při nachlazení a gastrointestinálních potížích. Již ve starověku byla tato rostlina využívána k léčbě vnitřních a vnějších poranění. Za hlavní biologicky aktivní látky se u *Sideritis syriaca*, L. považují diglukosidy, hypoelatin a isoskutelarein (Goulas a kol., 2014; Avoseh a kol., 2015).

Verbena officinalis L. je divoce rostoucí rostlina, která se vyskytuje v Evropě, Severní Americe, Číně a Japonsku. Podobně jako většina výše uvedených bylin se používala v lidové medicíně po tisíce let. Dnes se využívá mimo jiné také v potravinových doplncích. Extrakt z této byliny, který má protizánětlivé a antibakteriální účinky, je rovněž součástí léčivého přípravku na horní dýchací cesty, jehož obchodní název je Sinupret (Lai a kol., 2005). Extrakt je bohatý na fenyl perionoidy, isoverbaskosidy a verbaskosidy působící protizánětlivě, antibakteriálně a protinádorově (Choupani a kol., 2014).

Podle dostupných vědeckých publikací (Leite a kol., 1986 – citrónová tráva, Verbena – Etemad a kol., 2016; Feistel a kol., 2018 – „horský řecký čaj“) z vybraných bylin v této práci vykazuje toxicitu pouze extrakt z listů olivovníku (Omer a kol., 2012).

Cílem práce bylo stanovení celkových polyfenolů (CP) ve vodných vyluzích čtyř bylin. List olivovníku (*Olea europaea*) může být dle vyhlášky použit k přípravě směsi do výše 5 % hmotnosti čajové směsi. Ostatní použité byliny nejsou ve vyhlášce uvedeny – verbena (*Lippia citriodora*), „řecký horský čaj“ (*Sideritis syriaca*, L.) a citrónová tráva (*Cymbopogon citratus*).

Materiál a metodika

Vzorky verbeny (*Lippia citriodora*), citrónové trávy (*Cymbopogon citratus*) a olivového listu (*Olea europaea*, L.) byli zakoupeny v tržní síti. „Řecký horský čaj“ - The original Cretan tea (*Sideritis Syriaca* L.) byl zakoupen přímo v zemi původu. Bylo naváženo 1 g vzorku, který byl zalit 100 ml 100 °C vody. Následně byly byliny a listy louhovány po dobu 10 min a pak zfiltrány. Z filtrátu byl odebrán 1 ml vzorku do odměrné baňky k analýze. Ke vzorku bylo přidáno 5 ml Folin-Ciocalteu reakčního činidla a 4 ml 7,5 %

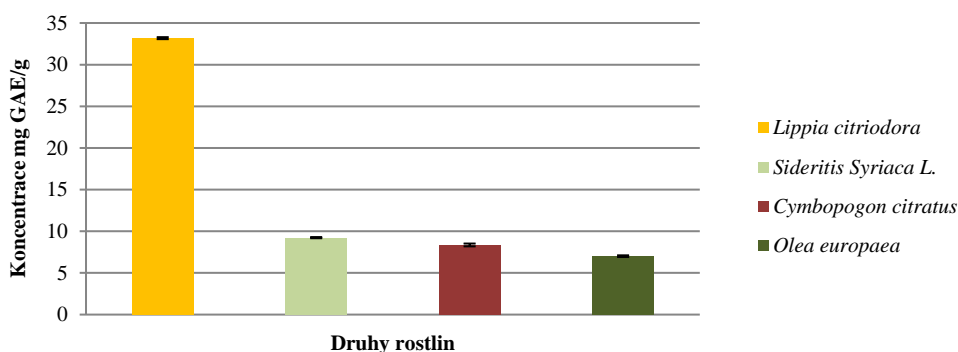
roztoku uhličitanu sodného. Po přidání uhličitanu sodného byla směs inkubována při pokojové teplotě po dobu 30 min ve tmě. Po inkubaci byla odměrná banka doplněna po rysku vodou a změřena absorbance roztoku při vlnové délce $\lambda = 765$ nm. Naměřená absorbance byla přepočtena dle kalibrační křivky a vyjádřena na mg ekvivalentu kyseliny gallové (GAE)/g čaje.

Výsledky a diskuze

Nabídka různých druhů částí rostlin stoupá vzhledem k lehké a nízkonákladové dostupnosti. Popularitu si získali díky jejich bioaktivním komponentům s terapeutickým účinkem, obsahem antioxidantů a jako bezkofeinová alternativa čajů pocházející z rodu *Camellia sinensis*. V tržní síti se ve specializovaných obchodech prodávají různé části rostlin, které je možné využít k přípravě čaje. Podle Vyhlášky č. 330/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů pro čaj, kávu a kávoviny se čajem rozumí výrobek rostlinného původu sloužící k přípravě nápoje určeného k přímé spotřebě nebo nápoj připravený z tohoto výrobku. Bylinným čajem je ve vyhlášce definován čaj vyrobený z částí bylin nebo jejich směsí uvedených v příloze č. 2 nebo bylin s pravým čajem nebo jejich směsí s ovocem, přičemž obsah bylin musí činit minimálně 50 % hmotnosti. Na první pohled se může zdát, že všechny byliny je možno využít na přípravu 100 % bylinného čaje. Avšak dle legislativy lze vybrané části rostlin uvedené v příloze 2 použít pouze ve směsi, a to do 30 % hmotnosti (část B) a pouze do 5 % hmotnosti (část C). Nicméně lze v tržní síti zakoupit části rostlin využívané k přípravě čaji spotřebiteli, které neobsahují označení bylina k přípravě čajové směsi. Produkty bývají označené pouze názvem rostliny a návodem k přípravě. Na trhu se vyskytují i části rostlin, které dokonce neuvádí ani příloha č. 2 Vyhlášky č. 330/1997 Sb. Příkladem může být citrónová tráva *Cymbopogon citratus*, přičemž v příloze je uvedena pouze voňatka *Cymbopogon nardus* L. W. Wats nebo verbena (*Lippia citriodora*), která se v daném seznamu nevyskytuje vůbec.

Námi analyzované byliny a olivové listy byli zalité vroucí vodou a louhovány po dobu 10 min. Bylo zjištěno, že nejvhodnější doba a teplota luhování této byliny je 10 minut při 93 °C. Tyto parametry luhování byli dodrženy i v průběhu naší analýzy. Se stoupající teplotou vody stoupá i rozpustnost polyfenolů. Rozdíl vylouhovaných polyfenolů v roztoku bývá i o polovinu vyšší v porovnání s teplotou 53,2 °C po dobu 20 min a 93 °C a po dobu luhování 10 min. Důvodem může být ulehčený přenos hmoty penetrací vody o vyšší teplotě do matrice rostliny a tím vyšší rozpustností polyfenolů (Irakli a kol. 2018). Autoři Irakli a kol. (2018) analyzovali „řecký horský čaj“ *Sideritis sacardica* po jednotlivých nadzemních částech. Nejnižší hodnoty zjistili u stonků (5,80–12,72 mg GAE/g) a nejvyšší obsah u květů (24,60–45,43 mg GAE/g). Analyzovaný vodní extrakt *Sideritis syriaca* L. v této práci byl připraven z celé nadzemní části rostliny a hodnota CP byla naměřena 9,24 mg GAE/g. Zjištěná koncentrace ve výše uvedené studii (Irakli a kol., 2018) odpovídá hodnotám, které byly naměřeny ve stoncích. Tato část rostliny se vyskytovala v našem vzorku v největším množství. Čajové substituenty „řeckého horského čaje“ a citrónové trávy obsahovaly porovnatelný obsah CP (9,24 a 8,36 mg GAE/g čaje, znázorněn na grafu č. 1. Mezi CP verbeny ostatními druhy výluhů byl prokázán statisticky vysoce významný rozdíl v celkovém obsahu polyfenolů ($p < 0,01$). Olivový list vykazoval nejnižší obsah CP z námi vybraných čajových alternativ a to pouze (7,01 mg GAE/g). Vodní extrakt z listů verbeny v porovnání s výsledkem autorů Roidaki a kol. (2015) obsahoval vyšší

koncentrace celkových polyfenolů, a to $33,19 \pm 0,17$ mg GAE/g, v porovnání s hodnotou 20,6 mg GAE/g. V studii Roidaki a kol. (2015) byla také použita extrakce za pomoci ultrazvuku a oproti běžnému výluhu se koncentrace celkových polyfenolů zvýšila o 75 %. V extraktu citronové trávy byl obsah námi naměřených celkových polyfenolů porovnatelný s hodnotami $10,7 \pm 0,2$ mg GAE/g, které jsou uvedeny ve studii autorů Méamed a kol. (2018). Nejnižší obsah polyfenolů v extraktu námi zjištěny, byl o něco nižší, než udávají autoři Ferreira a kol. (2007) a to $12,7 \pm 0,040$ mg GAE/g.



Graf č. 1: Koncentrace CP ve vodním extraktu z verbeny (*Lippia citriodora*), „řeckého horského čaje“ (*Sideritis Syriaca*, L), citronové trávy (*Cymbopogon citratus*) a olivových listů (*Olea europaea*)

Závěr

Cílem práce bylo stanovení celkových polyfenolů ve výluzích verbeny, řeckého horského čaje, citronové trávy a olivových listů, které vyskytují v tržní síti často pod označením jako jednodruhové čaje. Z našich výsledků má markantně nejvyšší obsah biologicky aktivních látek - polyfenolů verbena (*Lippia citriodora*) a to 33,19 mg GAE/g ($p < 0,01$). Listy olivovníku (*Olea europaea*) disponovali nejnižším obsahem CP a to pouze ,01 mg GAE/. Citronová tráva (*Cymbopogon citratus*) a „řecký horský čaj“ (*Sideritis syriaca*, L) obsahovali porovnatelné množství CP (10,70 mg GAE/g, 9,24 mg GAE/g). Z hlediska spotřebitele je nejvýhodnější byliny kombinovat, aby se do organismu dostávali biologicky aktivní látky z různých druhů rostlin, přičemž u listu z olivovníku je potřeba vzít v potaz jeho možnou nefrotoxicitu a hepatotoxicitu

Literatura

- Česká Republika. Vyhláška č. 78/2003 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 330/1997 Sb., kterou se provádí §18 písm. a), d), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro čaj, kávu a kávoviny, ve znění vyhlášky č. 91/2000 Sb. In Sbírka zákonů, 2003, č. 33, s. 2517-2521.
- Armata, M. a kol. Constituents of *Sideritis syriaca* ssp. *syriaca* (Lamiaceae) and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 2008 vol. 11, p. 179–186.
- Avoseh, O. a kol, *Cymbopogon* Species; Ethnopharmacology, Phytochemistry and the Pharmacological Importance. *Molecules*, 2015, vol. 20, p. 7438-7453.
- Baba, E. Dietary olive leaf (*Olea europea* L.) extract alters some immune gene expression levels and disease resistance to *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, *Fish and Shellfish Immunology*, 2018, vol. 79 s. 28–33.
- Bassolé, I.H. a kol. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedicine*, 2011, vol. 18, p. 1070–1074.

- Etemad, L. a kol. Acute, Subacute, and Cell Toxicity of the Aqueous Extract of *Lippia citriodora* *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 2016, vol. 3.
- Feistel, B. a kol. Assessment of the Acute and Subchronic Toxicity and Mutagenicity of *Sideritis scardica* Griseb. Extracts, *Toxins*, 2018, vol. 10, s. 1–12.
- Ferreira, I.C.F.R, a kol. Antioxidant activity and phenolic contents of *Olea europaea* L. leaves sprayed with different copper formulations. *Food Chemistry*, 2007, vol. 103, p. 188–195.
- Gonzalez-Burgos, E. a kol. *Sideritis* spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities-A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, vol. 2, p. 209–225.
- Goulas, V. a kol. Evaluation of the phytochemical content, antioxidant activity and antimicrobial properties of mountain tea (*Sideritis syriaca*) decoction. *Journal of functional food*, 2014, vol. 6, p. 248–258.
- Guinda, A. a kol. Determination of major bioactive compounds from olive leaf, *LWT - Food Science and Technology*, 2015, vol. 64, s. 431–438
- Choupani, M., DeloueE, S.A., Alami, M. Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts of Lemon Verbena (*Lippia Citriodora*) Leaves. *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2014, vol. 2, p. 1340–1346.
- Irakli, M. a kol. Optimization infusions conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in *Sideritis scardica* tea using response surface methodology. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2018, vol. 8, p. 67–74.
- Lai, S.W. a kol. Novel neuroprotective effects of the aqueous extracts from Verbena officinalis Linn, *Neuropharmacology*, 2006, vol. 50, p. 641–650.
- Leite, J.S. a kol. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus Stapf*). III. Assessment of eventual toxic, hypnotic and anxiolytic effects on humans, *Journal of Ethnopharmacology*, 1986, vol. 17, s. 75–83.
- Lin, D. a kol. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes, review, *Molecules*, 2016, vol. 21, s. 1–19
- Méamed, E.M.H., Abou-Sreea, A.I.B, Roby, M.H.H. Chemical analysis and giardicidal effectiveness of the aqueous extract of *Cymbopogon citratus Stapf*. *Parasitology Research*, 2018, vol. 117, p. 1745–1755.
- Moudache, M. a kol. Phenolic content and antioxidant activity of olive by-products and antioxidant film containing olive leaf extract, *Food Chemistry*, 2016, vol. 212, s. 521–527.
- Nunes, M. A. a kol. Olive by-products for functional and food applications: Challenging opportunities to face environmental constraints, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2016 vol. 35, s.139–148.
- Omer, S.A. a kol. Toxicity of Olive Leaves (*Olea europaea* L.) In Wistar Albino Rats, *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2012, vol. 7, p. 1175–1182.
- PANDEY, K.B. A RIZVI, S.I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2009, vol. 2, p. 270–278.
- Roidaki, A., Zoumpoulakis, P.G., Proestos, C. Comparison of extraction methods for the determination of antioxidant activity in extracts of *Hippophae rhamnoides* L. and *Lippia citriodora*. The effect of seasonal collection. *Austin journal of nutrition and food sciences*, 2015, vol. 3.

Kontaktní adresa

MVDr. Lucia Hodulová Ph.D.

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie

Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu

Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno

e-mail: hoduloval@vfu.cz

Patogény mliečnej žľazy izolované z ovčieho mlieka na Slovensku *Udder Pathogens Isolated from Sheep Milk in Slovakia*

Holko, I., Tančín, V., Tvarožková, K., Supuka, P., Supuková, A.

VETSERVIS, s.r.o., Nitra

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum NPPC,

Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra

Slovenská poľnohospodárska univerzita, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov,

Katedra veterinárnych disciplín, Nitra

Súhrn

Z celkovo 310 vzoriek ovčieho mlieka pochádzajúceho z troch chovov bol izolovaný aspoň jeden potenciálny patogén zo 102 vzoriek (32,9%). Celkovo bolo izolovaných 131 mikrobiálnych izolátov. Najviac zastúpeným druhom boli koaguláza negatívne stafylokoky *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus* (75,6%), nasledovali *Streptococcus agalactiae* (10,7%), *Staphylococcus aureus* (6,9%), *Streptococcus dysgalactiae* (4,6%), *Escherichia coli* (1,5%), *Enterococcus faecium* (1,5%) a ostatné (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus parauberis*, *Candida* sp., *Klebsiella* sp., mikromycéty) pod 1%.

Abstract

Of a total of 310 samples of sheep's milk coming from three breeds, at least one potential pathogen was isolated from 102 samples (32.9%). A total of 131 microbial isolates were isolated. The most represented species were coagulase negative staphylococci CONS (75.6%), followed by *Streptococcus agalactiae* (10.7%), *Staphylococcus aureus* (6.9%), *Streptococcus dysgalactiae* (4.6%), *Escherichia coli* (1.5%), *Enterococcus faecium* (1.5%), and others (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus parauberis*, *Candida* sp., *Klebsiella* sp., moulds) below 1%.

Kľúčové slová: ovca, mlieko, patogén, mastitída

Úvod

Význam subklinickej mastitídy ako limitujúceho faktora v produkcii ovčieho mlieka je dostatočne známy. Okrem poklesu dojivosti, zníženia životaschopnosti jahniat, subklinické mastitídy taktiež výrazne znižujú hygienickú kvalitu mlieka, ako aj jeho technologické vlastnosti.

Rozdiely v klimatických pomeroch, forme produkcie, manažmente chovu a chovateľskej praxi majú vplyv na rozdielnú epidemiológiu a klinickú manifestáciu zápalu mliečnej žľazy oviec. Cieľom tejto práce je identifikovať spektrum a frekvenciu bakteriálnych patogénov vyskytujúcich sa v chovoch mliečnych plemien oviec na Slovensku.

Materiál a metodika

Počas dvoch sezón boli opakovane odobraté vzorky mlieka z 3 fariem oviec v počte 160 (sezóna 2017) a 150 (sezóna 2018). Zvieratá pre odber boli vybrané náhodným výberom. Plemenné zastúpenie bolo nasledujúce: farma 1 - slovenská cigája, farma 2 - lacaune, farma 3 - slovenská zošľachtená valaška/lacaune. Vzorky mlieka o objeme cca 10 ml boli odobraté do sterilných skúmaviek z obidvoch polovičiek vemená po jeho

dezinfekcii a odstreknutí dvoch strekov. Po odbere boli vzorky schladené na 5 – 10°C, následne zmrazené a dopravené do laboratória. Bakteriologické vyšetrenie bolo vykonané do 5 dní po odbere. Vzorky mlieka (inokulum 10 µl) boli kultivované po dobu 24 hodín. Izolované kmene patogénov boli následne overené typizáciou pomocou BBL Crystal® (Becton, Dickinson & Co., New Jersey, USA).

Výsledky a diskusia

Z celkovo 310 vzoriek ovčieho mlieka pochádzajúceho z troch chovov bol izolovaný aspoň jeden potenciálny patogén zo 102 vzoriek (32,9%). Celkovo bolo izolovaných 131 mikrobiálnych izolátov vid' Tabuľka 1. Najviac zastúpeným druhom boli koaguláza negatívne stafylokoky *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus* (75,6%), nasledovali *Streptococcus agalactiae* (10,7%), *Staphylococcus aureus* (6,9%), *Streptococcus dysgalactiae* (4,6%), *Escherichia coli* (1,5%), *Enterococcus faecium* (1,5%) a ostatné (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus parauberis*, *Candida* sp., *Klebsiella* sp., mikromycéty) pod 1%.

Príčinou mastitíd oviec môže byť celý rad mikroorganizmov, podľa literárnych údajov sú to predovšetkým zástupcovia rodu *Staphylococcus* (Bergonier a Berthelot, 2003). Výsledky tejto práce rovnako potvrdzujú tento bakteriálny rod ako dominantný v podmienkach chovov zaradených do pozorovania, a to v oboch po sebe nasledujúcich sezónach.

Viacero autorov uvádza že koaguláza negatívne stafylokoky CoNS sú najčastejšou príčinou subklinických mastitíd oviec s mliečnou produkciou (Fthenakis, 1994; Burriel, 1997; Lafi a kol, 1998; Pengov, 2001; Ariznabaretta a kol, 2002; Gonzalo a kol, 2002) a *Staphylococcus aureus* je častejší u mäsových plemien oviec (Jones, 1991; Watson a kol, 1990; Hariharan a kol, 2004; Mork a kol, 2007). Farmy zaradené do tejto práce sú zamerané na produkciu ovčieho mlieka a CoNS predstavovali výraznú prevahu zo všetkých izolovaných patogénov. *Staphylococcus aureus* predstavoval len necelých 7% izolátov.

Streptokoky sú pravdepodobne druhou najčastejšou príčinou mastitíd oviec po stafylokokoch (Bergonier a kol., 1999) Najčastejšie izolovanými druhmi sú *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* a *Streptococcus dysgalactiae* (Las Heras a kol, 2002). V tejto práci boli streptokoky zastúpené predovšetkým druhom *Streptococcus agalactiae*, avšak len v prvej zo sledovaných sezón. V druhom roku sledovania výskyt streptokokov v odoberaných vzorkách výrazne klesol. Tento rozdiel mohol byť zapríčinený určitými chovateľskými opatreniami v rámci manažmentu dojenja a celkovej hygieny v chove. Zastúpenie ostatných druhov patogénov v rámci izolátov získaných v tejto práci bolo zanedbateľné.

Z hľadiska epizootológie sú CoNS často vyskytujúcim sa patogénom najmä v prípade subklinických mastitíd. Nepredstavujú majoritný špecifický patogén, ale môžu potenciálne spôsobovať infekcie, ktoré majú tendenciu k miernej klinickej manifestácii. O to viac môžu unikať pozornosti chovateľa a tým spôsobovať straty v mliečnej produkcii, čo do kvantity, ale hlavne kvality mlieka.

Tabuľka 1: Počty jednotlivých mikrobiálnych druhov izolovaných z 3 vyšetovaných fariem oviec počas dvoch sezón 2017 a 2018

Patogén	Počet izolátov v sezóne						Spolu
	2017			2018			
	Farma 1	Farma 2	Farma 3	Farma 1	Farma 2	Farma 3	
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	13	6	7	4	1	8	39
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	4	1	2	4	3	16
<i>Staphylococcus xylosus</i>	8	14	5	4	2	5	38
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	4	2	2	1	0	9
<i>Streptococcus agalactiae</i>	9	1	4	0	0	0	14
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1	1	2	2	0	0	6
<i>Streptococcus uberis</i>	1	0	0	0	0	0	1
<i>Streptococcus parauberis</i>	1	0	0	0	0	0	1
<i>Escherichia coli</i>	0	2	0	0	0	0	2
<i>Klasiella</i> sp.	0	0	0	0	1	0	1
<i>Enterococcus faecium</i>	1	1	0	0	0	0	2
<i>Candida</i> sp.	0	0	1	0	0	0	1
Mikromycéty	0	0	1	0	0	0	1

Záver

Na základe výsledkov tejto práce je možné predpokladať podobné spektrum patogénov a ich frekvencie popisovanej v zahraničí aj v rámci slovenských ovčích fariem zameraných na produkciu mlieka. Koaguláza negatívne stafylokoky, ako najčastejší patogén, predstavujú riziko v podobe subklinického priebehu zápalových zmien v mliečnej žľaze, ktoré často unikajú pozornosti chovateľov, no môžu mať výrazný dopad na kvalitu mliečnej produkcie.

Literatúra

Ariznabarreta, A., Gonzalo, C., San Primitivo, F. 2002. Microbiological quality and somatic cell count of ewe milk with special reference to staphylococci. J. Dairy Sci. 85, 2002, 1370-1375.

- Burriel, A.R. 1997. Dynamics of intramammary infection in the sheep caused by coagulase-negative staphylococci and its influence on udder tissue and milk composition. *Vet. Rec.* 140, 1997, 419-423.
- Bergonier, D., X. Berthelot, M. Romeo, A. Contreras, V. Coni, E. De Santis, S. Roselu, F. Barillet, G. Lagriffoul, and J. Marco. 1999. Fréquence des différents germes responsables de mammites cliniques et subcliniques chez les petits ruminants laitiers, p. 130–136. In: F. Barillet and P. Zervas (ed.), *Milking and milk production of dairy sheep and goats*. Wageningen Pers, Wageningen, The Netherlands.
- Bergonier, D., Berthelot, X. 2003. New advances in epizootiology and control of ewe mastitis. *Livest. Prod. Sci.* 79, 2003, 1-16.
- Fthenakis, G.C. 1994. Prevalence and aetiology of subclinical mastitis ewes of Southern Greece. *Small Rumin. Res.* 13, 1994, 293-300
- Gonzalo, C., Ariznabarreta, A., Carriedo, J.A., San Primitivo, F. 2002. Mammary pathogens and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 85, 2002, 1460-1467.
- Hariharan, H., Donachie, W., Macaldowie, C., Keefe, G. 2004. Bacteriology and somatic cell counts in milk samples from ewes on a Scottish farm. *Canadian J. Vet. Res.*, 68, 2004, 188-192
- Jones, J.E.T. 1991. Mastitis in sheep. In *Breeding for Disease Resistance in Farm Animals* Edited by: Owen, J.B., Axfor, R.F.E. Bangor: Tucson, AZ, CAB International; 1991, 412-423.
- Las Heras, A., Vela, A.I., Fernández, E., Legaz, E., Domínguez, L., Fernández-Garayzabal, J.F. 2002. Unusual Outbreak of Clinical Mastitis in Dairy Sheep Caused by *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. *J. Clin. Microbiol.* 40, 2002, 1106-1108.
- Lafi, S.Q., Al-Majali, A.M., Rousan, M.D., Alawneh, J.M. 1998. Epidemiological studies of clinical and subclinical ovine mastitis in Awassi sheep in northern Jordan. *Prev. Vet. Med.* 33, 1998, 171-181.
- Mork, T., Waage, S., Tollesrud, T., Kvitle, B., Sviland, S. 2007. Clinical mastitis in ewes; bacteriology, epidemiology and clinical features, *Acta. Vet. Scand.* 49, 2007, 23
- Pengov, A. 2001. The role of coagulase-negative *Staphylococcus* spp. and associated somatic cell count in the ovine mammary gland. *J. Dairy Sci.*, 84, 2001, 572-574.
- Watson, D.L., Franklin, N.A., Davies, H.I., Kettlewell, P., Frost, A.J. 1990. Survey of intramammary infections in ewes on the New England Tableland of New South Wales. *Aust. Vet. J.* 67, 1990, 6-8.

Pod'akovanie

Práca bola riešená v rámci projektu APVV-15-0072.

Kontaktná adresa

Doc. MVDr. Ivan Holko, PhD.

VETSERVIS, s.r.o., Kalvária 3, 949 01 Nitra,

e-mail: holko@vetservis.sk

Inhibice *Salmonella* Typhimurium esenciálními oleji z oregána a tymiánu v mletém vepřovém masu s různým obsahem tuku
Inhibition of Salmonella Typhimurium by oregano and thyme essential oils in minced pork with different fat content

Hulánková, R.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno
CEITEC - Středoevropský technologický institut, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Cílem práce bylo porovnat antimikrobiální účinek esenciálních olejů (EO) z oregána (*Origanum vulgare*) a tymiánu (*Thymus vulgaris*) v koncentraci 1 % (v/w) vůči *Salmonella* Typhimurium v mletém vepřovém masu s různým obsahem tuku. Vzorky mletého vepřového masa (N=180) byly po inokulaci vakuově zabaleny a skladovány při +3 °C/7 d. Přídavek EO snížil u libových partií (kýta, pečeně; průměrný obsah tuku 0,8 a 1,7 %) počty salmonel na konci skladování v porovnání s kontrolou o více než 2 log KTJ/g ($P<0,001$). Naopak u masa z krkovic a zejména z boku (průměrný obsah tuku 9 a 24 %) nebyl zaznamenán významný pokles počtu salmonel. EO tedy není vhodnou antimikrobiální látkou pro použití v mletém masu s vyšším obsahem tuku.

Klíčová slova: *přírodní antimikrobiální látky, mleté maso, regulace patogenů*

Abstract

The aim of this study was to compare the antimicrobial effect of essential oils (EO) from oregano (*Origanum vulgare*) and thyme (*Thymus vulgaris*) in the concentration of 1 % (v/w) against *Salmonella* Typhimurium in minced pork with different fat content. After inoculation the samples of minced meat (N=180) were vacuum-packed and stored at +3°C for 7 d. The addition of EO to the lean meat from leg or loin (average fat content 0.8 and 1.7 %, respectively) decreased at the end of storage the numbers of *Salmonella* by more than 2 log CFU/g in comparison to control ($P<0.001$). On the other hand, no significant inhibition was detected in neck and especially in belly (average fat content 9 and 24 %, respectively). Thus, EO seems to be an unsuitable antimicrobial agent for application to minced meat with a higher fat content.

Keywords: *natural antimicrobials, minced meat, pathogen control*

Úvod

Studium antimikrobiálních účinků esenciálních olejů (EO) z různých druhů rostlin je v posledních letech populárním vědeckým tématem. Antimikrobiální účinek EO v potravinách je ovlivněn mnoha vnitřními a vnějšími faktory, které mohou vést ke snížení účinnosti olejů v porovnání s pokusy *in vitro*. Klíčovým faktorem je chemické složení potravin - konkrétně byl studován obsah tuku, bílkovin, škrobu a dalších látek (Burt, 2004, Gutierrez et al., 2008). Všeobecně se uvádí, že zvýšený obsah tuku snižuje účinnost EO, který se rozpouští v tuku a nepůsobí tak na mikroorganismy, které se naopak nacházejí ve vodné fázi potravin (Mejlholm a Dalgaard, 2002). Tato hypotéza je podpořena výsledky několika studií zahrnujících použití živného bujónu se

slunečnicovým olejem (Gutierrez et al., 2008) a vepřovým sádlem (García-Díez et al., 2017), porovnání nízkotučného a vysokotučného sýra (Smith-Palmer et al., 2001) nebo srovnání paštiky s tzatziki (Tassou et al., 1995), což jsou však velmi odlišné matrice. Nebyla však provedena žádná cílená studie, která by objasnila, do jaké míry obsah tuku snižuje antimikrobiální účinek EO přímo v mase. Cílem této práce je porovnat antimikrobiální účinek esenciálních olejů z oregána (*Origanum vulgare*) a tymiánu (*Thymus vulgaris*) vůči *Salmonella* Typhimurium v mletém vepřovém mase z pěti různých partií s různým obsahem tuku (kýta, pečeně, plec, krkovice a bok).

Materiál a metodika

Vzorky mletého vepřového masa byly připraveny na řezačce (3 mm) z pěti standardních výsekových mas (kýta vrchní šál, pečeně, velká plec, krkovice a bok) získaných ze šesti prasat (N=30). Obsah tuku ve vzorcích byl stanoven podle ČSN ISO 1444 (extrakce dle Soxhleta).

Esenciální oleje byly včetně specifikace složení získány od firmy Nobilis Tilia, ČR. EO z oregána (*Origanum vulgare*) obsahoval zejména karvakrol (74 %), *p*-cymen (7 %) a γ -terpinen (6 %), EO z tymiánu (*Thymus vulgaris*) thymol (46 %), *p*-cymen (18 %) a γ -terpinen (12 %).

Inokulum bylo připraveno pomocí McFarlandovy zákalové stupnice ze čtyř kmenů *Salmonella* Typhimurium (fagotypy DT1, DT104, DT108 a DT120), izolovaných z vepřového masa a z povrchu JUT prasat. Koncentrace inokula byla ověřena vyočkováním na XLD agar (0. den).

Pro inokulaci byly vytvořeny vzorky masa o hmotnosti 20 g, ve kterých bylo důkladně rozmícháno inokulum a následně esenciální olej (s výjimkou vzorků kontrolních). Finální koncentrace salmonel ve vzorcích byla 5 log b/g, koncentrace esenciálního oleje 1 % (v/w). Ihned po přípravě byly vzorky vakuově zabaleny a skladovány při +3°C po dobu 7 dní. Celý experiment byl prováděn dvojmo (N=180).

Na konci skladování bylo odebráno 10 g z každého vzorku pro stanovení počtu salmonel. Desetinásobná ředění byla vyočkována spirálovým očkovačem (easySpiral Pro, Interscience) na XLD agar (CM0469, Oxoid, UK). Plotny byly inkubovány při 37°C po dobu 24 h a poté byly spočítány typické kolonie.

Počty salmonel byly zlogaritmovány a porovnávány v programu Statistica v. 7.1 (Statsoft, ČR) metodou dvoufaktorové ANOVA s interakcemi a post hoc Tukeyho HSD testem, kdy byl zjišťován rozdíl mezi jednotlivými partiemi JUT a mezi kontrolou a jednotlivými EO. Za statisticky významnou byla považována hodnota $P < 0,05$.

Výsledky a diskuze

Počty salmonel na konci skladování jsou uvedeny v Tab. 1 spolu s průměrným obsahem tuku v jednotlivých partiích JUT, který se pohyboval od méně než 1 % (v kýtě) až po 24 % (v boku). Zatímco mezi 0. dnem a kontrolou po 7 dnech skladování nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl, přídavek esenciálních olejů snížil počty salmonel na konci skladování ve srovnání s kontrolou, a to zejména u libových partií (kýta, pečeně, plec; $P < 0,001$). Ve většině případů se počty snížily o více jak dva logaritmické řády. Obdobné výsledky zaznamenali v mletém libovém vepřovém např. Boskovic et al. (2017), v jejichž studii s 0,9 % EO z tymiánu došlo za obdobných skladovacích podmínek k poklesu salmonel o téměř tři logaritmické řády. Na druhou stranu Chen et al. (2013) při použití pouze 0,5 % EO z oregána nezaznamenali po 7 dnech skladování výrazné snížení počtu *S. Typhimurium*.

Se stoupajícím obsahem tuku klesaly inhibiční účinky obou olejů. EO z oregána se jevil jako účinnější proti *Salmonella* Typhimurium, i když statisticky významný rozdíl mezi oleji byl zaznamenán pouze u vzorků z kýty. Tento rozdíl lze vysvětlit o něco vyšším obsahem hlavních účinných složek v porovnání s použitým EO z tymiánu.

Tabulka 1: Počty *Salmonella* Typhimurium ve vakuově baleném mletém vepřovém masu po skladování při +3 °C/7 d v přítomnosti esenciálních olejů (EO) v koncentraci 1 %

Partie JUT	Obsah tuku [%]	<i>Salmonella</i> Typhimurium [log KTJ/g]			
		0. den	7. den Kontrola	7. den EO oregáno	7. den EO tymián
Kýta	0,78±0,48 ^a	5,05±0,10 ^A	4,90±0,27 ^A	2,50±0,40 ^{Ba}	3,09±0,86 ^{Ca}
Pečeně	1,72±0,86 ^a	5,05±0,10 ^A	4,92±0,34 ^A	2,59±0,60 ^{Ba}	2,72±0,56 ^{Ba}
Plec	3,38±1,25 ^a	5,05±0,10 ^A	4,93±0,39 ^A	3,90±0,49 ^{Bb}	4,14±0,46 ^{Bb}
Krkovice	9,23±2,53 ^b	5,05±0,10 ^A	4,87±0,33 ^{AB}	4,38±0,35 ^{Bbc}	4,55±0,31 ^{Bbc}
Bok	24,18±1,73 ^c	5,05±0,10	4,90±0,32	4,63±0,28 ^c	4,73±0,32 ^c

^{a-c} statisticky významný rozdíl mezi partiemi (ve sloupci)

^{A-C} statisticky významný rozdíl mezi skupinami (v řádku)

Závěr

Přídavek EO v koncentraci 1 % vedl po 7 dnech skladování k výrazné inhibici salmonel ve vzorcích libového vepřového masa, jako je kýta a pečeně. Naopak u masa z krkovic a zejména z boku nebyl zaznamenán významný pokles počtu salmonel, přičemž kvůli výrazným sensorickým vlastnostem se obecně doporučují nižší koncentrace EO než 1 % (Burt, 2004; Boskovic et al., 2017). Při vyšším obsahu tuku v masu (který je pro balené mleté vepřové maso, respektive mleté masné polotovary v tržní síti typický) tudíž hrozí, že nebude dosaženo požadovaného antimikrobiálního účinku.

Literatura

Boskovic, M., Djordjevic, J., Ivanovic, J., Janjic, J., Zdravkovic, N., Glisica, M., Glamoclija, N., Baltic, B., Djordjevic, V., Baltic, M. Inhibition of *Salmonella* by thyme essential oil and its effect on microbiological and sensory properties of minced pork meat packaged under vacuum and modified atmosphere. *International Journal of Food Microbiology*, 2017, vol. 258, p. 58–67.

Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, vol. 94, p. 223–253.

Chen, C.H., Ravishankar, S., Marchello, J., Friedman, M. Antimicrobial activity of plant compounds against *Salmonella* Typhimurium DT104 in ground pork and the influence of heat and storage on the antimicrobial activity. *Journal of Food Protection*, 2013, vol. 76, no. 7, p. 1264–1269.

García-Díez, J., Alheiro, J., Pinto, A.L., Soares, L., Falco, V., Fraqueza, M.J., Patarata, L. Influence of food characteristics and food additives on the antimicrobial effect of garlic and oregano essential oils. *Foods*, 2017, vol. 6, no. 6, article no. 44.

Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., Bourke, P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, vol. 124, p. 91-97.

Mejlholm, O., Dalgaard, P. Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. *Letters in Applied Microbiology*, 2002, vol. 34, no. 1, p. 27-31.

Smith-Palmer, A., Stewart, J., Fyfe, L. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 2001, vol. 18, no. 4, p. 463-470.

Tassou, C.C., Drosinos, E.H., Nychas, G.J.E. Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4° and 10°C. *Journal of Applied Bacteriology*, 1995, vol. 78, no. 6, p. 593-600.

Poděkování

Tento výzkum byl řešen v rámci Bezpečnostního výzkumu Ministerstva vnitra České republiky (VI20152020044) a byl finančně podpořen Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR v rámci projektu CEITEC 2020 (LQ1601).

Kontaktní adresa

Mgr. Radka Hulánková, Ph.D.

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie

Ústav hygieny a technologie masa

Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

e-mail: hulankovar@vfu.cz

Možnosti aplikace škrobového obalu pro zlepšení antioxidačních vlastností krájených jablek během skladování
Possibilities of application of starch coating for improving the antioxidant properties of fresh cut apple pieces during storage

Jančíková, S., Dordevic, D.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Cílem výzkumu bylo monitorování antioxidační aktivity u jablek odrůdy Granny Smith balených ve škrobovém obalu. Pro pokus byly použity krájené kousky jablek (1x1 cm), které byly následně baleny ponořením ve škrobovém film formujícím roztoku (5% škrob; 93,5% destilovaná voda; 1,5% glycerol). Antioxidační aktivita vzorků byla měřena pomocí obsahu polyfenolů a také pomocí metody FRAP (ferric reducing antioxidant power). Tyto hodnoty byly sledovány během skladování po dobu 14 dní, kdy odběry probíhaly 0., 2., 7. a 14. den a vzorky byla uchovávány v lednici při +4°C a také při laboratorní teplotě (+25°C). Ze získaných výsledků bylo zjištěno, že jablka balená do škrobového obalu nevykazují lepší vlastnosti než kontrolní vzorky. Závěrem tedy vyplývá, že samotný škrobový obal nemá na antioxidační vlastnosti krájených jablek velký vliv oproti kontrolním vzorkům bez obalu. Pro zlepšení těchto vlastností se doporučuje do připravených film formujících roztoků přidávat různé rostlinné extrakty, popřípadě esenciální oleje.

Abstract

The aim of the research was to monitor antioxidant potential of cut apple pieces (Granny Smith) packed in starch coating. The cut apple pieces (1x1 cm) were used for research and these pieces were diving in the starch film forming solution (5 % starch, 93.5 % distilled water, 1.5 % glycerol). Antioxidant activity of samples was measured by polyphenol content and by FRAP (ferric reducing antioxidant power). These properties were measured during storage for 14 days in four intervals (0 day, 2 days, 7 days, and 14 days). The samples were stored in refrigerator (+ 4°C) and at laboratory temperature (+ 23°C). There was found out that starch film does not have influence on the antioxidant properties of cut apple pieces. It is recommended to add different plant extracts or essential oils in the film forming solutions for the improving these properties.

Klíčová slova: *škrob, jedlý obal, antioxidační vlastnosti, krájená jablka*

Úvod

Výzkum v oblasti jedlých obalů se poslední roky velmi rozvíjí, zvláště kvůli jejich pozitivnímu vlivu na životní prostředí, kdy mohou sloužit jako náhrada syntetických obalů, u kterých je dlouhá doba rozkladu a dochází tak k významné ekologické zátěži (Seligra *et al.*, 2013). Škrobový obal spolu s přísadkou glycerolu může fungovat jako ochrana potravin před vnějšími vlivy. Díky němu tedy může mít potravinu prodlouženou dobu trvanlivosti (dos Santos Caetano *et al.*, 2018).

Aplikace jedlých obalů nachází uplatnění i u minimálně zpracovaných potravin, které se na trhu objevují čím dál častěji. Používají se zejména proto, aby byly u těchto druhů

potravin udržovány co možná nejdéle dobu maximální nutriční hodnoty (Yousuf *et al.*, 2018).

Materiál a metodika

Jako materiál byla použita jablka odrůdy Granny Smith (země původu Itálie, jakost I, Kalibr 75-80 mm). Použitý škrob byl získán od firmy PENTA, glycerol od firmy FICHEMA.

Jedlý obal byl připraven ve složení 5 % škrob, 93,5 % destilovaná voda a 1,5 % glycerol. Dále byla do film formujícího roztoku namáčena krájená jablka (1x1 cm) po dobu 30 s. Jablka byla následně skladována při laboratorní teplotě (+25°C) a v lednici při teplotě +4°C. Vzorky byly rozřazeny do 4 skupin: KL (kontrola – lednice), ŠL (škrobový obal - lednice), KLT (kontrola - laboratorní teplota), ŠLT (škrobový obal - laboratorní teplota). U vzorků byla sledována antioxidační aktivita pomocí metody stanovení celkového počtu polyfenolů a metody FRAP vždy 0., 2., 7. a 14. den.

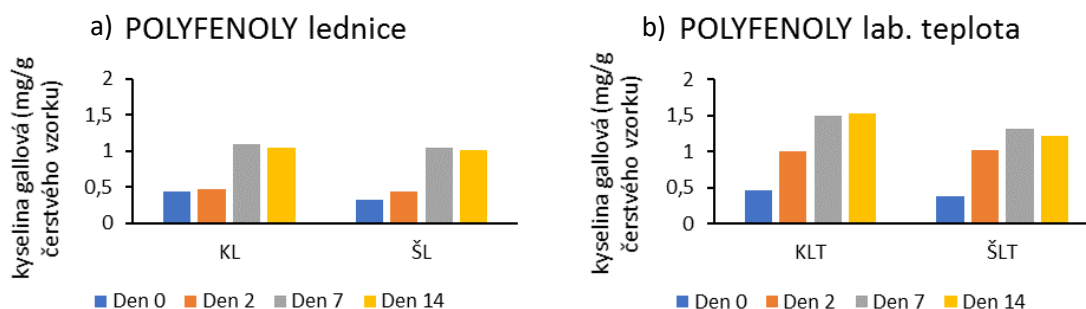
Stanovení celkových polyfenolů bylo provedeno za použití Folin-Ciocalteu roztoku a roztoku Na₂CO₃, kdy po 30 minutách inkubace byla odečtena absorbance při 765 nm a výsledky byly vyjádřeny jako obsah kyseliny gallové v čerstvém vzorku (mg/g) (Tomadoni *et al.* 2016). Metoda FRAP byla provedena pomocí roztoku složeného z octanového pufru, roztoku FeCl₃ a TPTZ, kdy po 8 minutách inkubace byla odečtena absorbance při 593 nm a výsledky byly vyjádřeny jako obsah Troloxu v čerstvém vzorku (μmol/g) (Behbahani *et al.* 2017).

Výsledky byly statisticky zpracovány v programu SPSS 20 pomocí jednofaktorového ANOVA testu.

Výsledky a diskuze

Během skladování docházelo u všech vzorků k postupnému zvyšování obsahu polyfenolů. Zvyšování polyfenolů u minimálně zpracovaného ovoce a zeleniny bylo pozorováno i u dříve prováděných studií, důvodem zvýšení je způsobení stresu rostlinné tkáni, kdy pak dochází k aktivaci fenylypropanoidového metabolismu (Wang *et al.*, 2015; (Salinas Roca *et al.* 2018). Nejvyšší hodnoty obsahu polyfenolů byly pozorovány 7. a 14. den, kdy vždy vyšší obsah polyfenolů byl zaznamenán u kontrolních vzorků.

Graf 1: výsledky TPC pro vzorky a) skladované v lednici, b) skladované při laboratorní teplotě



* KL (kontrola – lednice), ŠL (škrobový obal - lednice), KLT (kontrola - laboratorní teplota), ŠLT (škrobový obal - laboratorní teplota)

Tabulka 1: Obsah polyfenolů (mg kyseliny gallové/g čerstvého vzorku)

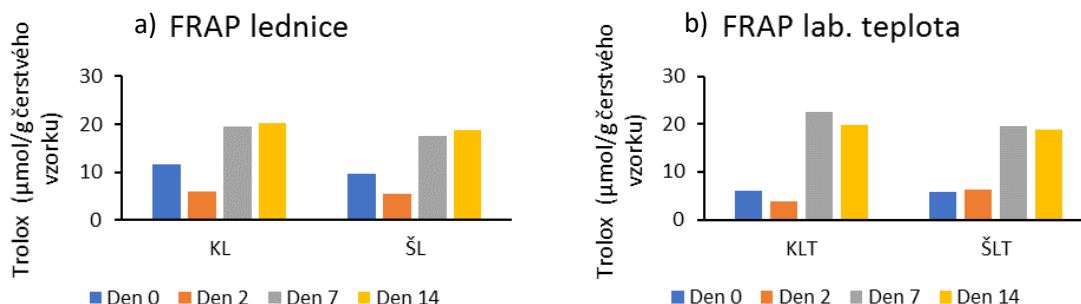
	Den 0	Den 2	Den 7	Den 14
KL	0,433 ± 0,001 ^{aA}	0,481 ± 0,001 ^{bA}	1,089 ± 0,001 ^{cA}	1,048 ± 0,001 ^{dA}
ŠL	0,319 ± 0,000 ^{aB}	0,435 ± 0,000 ^{bB}	1,051 ± 0,000 ^{cB}	1,018 ± 0,001 ^{dB}
KLT	0,454 ± 0,001 ^{aC}	1,002 ± 0,000 ^{bC}	1,499 ± 0,001 ^{cC}	1,523 ± 0,004 ^{dC}
ŠLT	0,382 ± 0,001 ^{aD}	1,015 ± 0,001 ^{bD}	1,312 ± 0,001 ^{cD}	1,217 ± 0,001 ^{dD}

*Horní index s malým písmenem ukazuje statisticky významné rozdíly ($p \geq 0,05$) v řádcích

**Horní index s velkým písmenem ukazuje statisticky významné rozdíly ($p \geq 0,05$) ve sloupcích

*** KL (kontrola – lednice), ŠL (škrobový obal - lednice), KLT (kontrola - laboratorní teplota), ŠLT (škrobový obal - laboratorní teplota)

V případě antioxidační aktivity bylo obdobně jako v případě polyfenolů pozorováno zvyšování hodnot během skladování a opět vyšší hodnoty antioxidační aktivity byly zaznamenány u kontrolního vzorku, zatímco ve vzorcích balených do škrobového obalu byla naměřená hodnota nižší. Signifikantně významné rozdíly ($p \geq 0,05$) byly pozorovány mezi všemi hodnotami, nejvyšší výsledky obdobně jako u polyfenolů byly naměřeny 7. a 14. den skladování. Pro lepší možnost zachování co nejvyšších hodnot antioxidační aktivity během skladování minimálně zpracovaného ovoce se doporučuje v případě škrobového obalu ale i dalších typů obalů použít v receptuře i přídavek dalších aditiv, kam spadají esenciální oleje nebo rostlinné extrakty (Pajak *et al.*, 2016).

Graf 2: výsledky antioxidační aktivity pro vzorky a) skladované v lednici, b) skladované při laboratorní teplotě

* KL (kontrola – lednice), ŠL (škrobový obal - lednice), KLT (kontrola - laboratorní teplota), ŠLT (škrobový obal - laboratorní teplota)

Tabulka 2: Antioxidační aktivita (µmol Troloxu/g čerstvého vzorku)

	Den 0	Den 2	Den 7	Den 14
KL	11,554 ± 0,127 ^{aA}	5,891 ± 0,048 ^{bA}	19,552 ± 0,256 ^{cA}	20,331 ± 0,280 ^{dA}
ŠL	9,784 ± 0,067 ^{aB}	5,627 ± 0,045 ^{bB}	17,661 ± 0,284 ^{cB}	18,900 ± 0,211 ^{dB}
KLT	6,155 ± 0,071 ^{aC}	3,780 ± 0,061 ^{bC}	22,546 ± 0,202 ^{cC}	19,806 ± 0,571 ^{dAB}
ŠLT	5,694 ± 0,063 ^{aD}	6,308 ± 0,062 ^{bD}	19,473 ± 0,241 ^{cAD}	18,801 ± 0,228 ^{cdC}

*Horní index s malým písmenem ukazuje statisticky významné rozdíly ($p \geq 0,05$) v řádcích

**Horní index s velkým písmenem ukazuje statisticky významné rozdíly ($p \geq 0,05$) ve sloupcích

*** KL (kontrola – lednice), ŠL (škrobový obal - lednice), KLT (kontrola - laboratorní teplota), ŠLT (škrobový obal - laboratorní teplota)

Závěr

Z výzkumu vyplývá, že použití škrobového obalu nemá na obsah polyfenolů a antioxidační aktivitu během skladování velký vliv. Aby bylo dosaženo lepších výsledků, doporučuje se do receptury pro výrobu škrobového obalu přidat některé z aditiv, které podporují antioxidační vlastnosti potravin, tedy například esenciální oleje nebo rostlinné extrakty.

Literatura

Behbahani, Behrooz Alizadeh, Fakhri Shahidi, Farideh Tabatabaei Yazdi, Seyed Ali Mortazavi a Mohebbat Mohebbi. Use of Plantago major seed mucilage as a novel edible coating incorporated with Anethum graveolens essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2017, 2017(94), 515-526 [cit. 2018-09-02]. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.10.055. ISSN 01418130. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813016317913>

Dos Santos Caetano, Karine, Nathalie Almeida Lopes, Tania Maria Haas Costa, Adriano Brandelli, Eliseu Rodrigues, Simone Hickmann Flôres a Florencia Cladera-Olivera. Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural compounds. *Food Packaging and Shelf Life* [online]. 2018, 2018(16), 138-147 [cit. 2018-09-02]. DOI: 10.1016/j.fpsl.2018.03.006. ISSN 22142894. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214289417303927>

Pająk, Paulina, Robert Socha, Patrycja Łakoma a Teresa Fortuna. Antioxidant properties of apple slices stored in starch-based films. *International Journal of Food Properties* [online]. 2016, 20(5), 1117-1128 [cit. 2018-09-04]. DOI: 10.1080/10942912.2016.1203931. ISSN 1094-2912. Dostupné z:

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2016.1203931>

Salinas-Roca, Blanca, Ariadna Guerreiro, Jorge Welti-Chanes, Maria D. C. Antunes a Olga Martín-Belloso. Improving quality of fresh-cut mango using polysaccharide-based edible coatings. *International Journal of Food Science & Technology* [online]. 2018, 53(4), 938-945 [cit. 2018-09-04]. DOI: 10.1111/ijfs.13666. ISSN 09505423. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/ijfs.13666>

Seligra, Paula Gonzales, Federico Nuevo, Melisa Lamanna a Lucía Famá. Covalent grafting of carbon nanotubes to PLA in order to improve compatibility. *Composites Part B: Engineering* [online]. 2013, 2013(46), 61-68 [cit. 2018-09-02]. DOI: 10.1016/j.compositesb.2012.10.013. ISSN 13598368. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359836812006671>

Tomadoni, B., G. Viacava, L. Cassani, M. R. Moreira a A. Ponce. Novel biopreservatives to enhance the safety and quality of strawberry juice. *Journal of Food Science and Technology* [online]. 2016, 53(1), 281-292 [cit. 2018-09-02]. DOI: 10.1007/s13197-015-2068-9. ISSN 0022-1155. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s13197-015-2068-9>

Wang, X., D. Kong, Z. Ma a R. Zhao. Effect of carrot puree edible films on quality preservation of fresh-cut carrots. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* [online]. 2015, 54(1), 64-71 [cit. 2018-09-04]. DOI: 10.1515/ijafr-2015-0007. ISSN 0791-6833. Dostupné z:

<http://content.sciendo.com/view/journals/ijafr/54/1/article-p64.xml>

Yousuf, Basharat, Ovais Shafiq Qadri a Abhaya Kumar Srivastava. Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review. *LWT* [online]. 2018, 2018(89), 198-209 [cit. 2018-09-07]. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.10.051. ISSN 00236438. Dostupné z:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643817308046>

Kontaktní adresa

Bc. Simona Jančíková

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie

Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu

Palackého tř. 1946/1, 612 42, Brno

e-mail: jancikovas@vfu.cz

Estery kyseliny ftalové v plastových nádobách pro mikrovlnný ohřev *Esters of Phthalic Acid in Plastic Containers for Microwave Heating*

Jandlová, M., Jarošová, A.
Mendelova univerzita v Brně

Souhrn

Estery kyseliny ftalové, změkčovadla plastů, jsou kvůli zdravotním rizikům regulovány legislativou a to limity pro přestup do potravin. V naší studii byly analyzovány dva estery kyseliny ftalové dibutyl ftalát (DBP) a di(2-ethylhexyl) ftalát (DEHP) v plastových miskách dostupných na trhu, určených pro mikrovlnný ohřev. A pro srovnání analyzován typ misky, která neuváděla vhodnost pro mikrovlnný ohřev. Tato prvotní analýza bude sloužit pro další výzkum vlivu mikrovlnného záhřevu na koncentrace esterů kyseliny ftalové v miskách a v ohřívaných potravinách. Nejvyšší průměrná koncentrace sumy obou esterů kyseliny ftalové byla nalezena u víčka a misky určené pro mikrovlnný ohřev, v našem článku označená 2.), pro víčko $10,21 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, resp. $134,87 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ a pro misku $8,90 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, resp. $95,36 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$.

Abstract

Phthalic acid esters, plasticizers of plastics, are regulated by legislative limits of migration into food due to health risks. Two phthalate esters, dibutyl phthalate (DBP) and di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), were analyzed in our study in microwave plastic dishes available on the market. And for comparison, a type of dish that did not indicate suitability for microwave heating was analyzed. This initial analysis will serve to further investigate the influence of microwave heating on phthalic acid esters in bowls and heated foods. The highest average concentration of the sum of the two phthalic acid esters was found in the lid and in the bowl specified for microwave heating, in our article labeled 2.), for the lid $10.21 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ($134.87 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$) and for the bowl of $8.90 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ($95.36 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$).

Klíčová slova: *dibutyl ftalát, di(2-ethylhexyl) ftalát, plastifikátor, plast, mikrovlnný ohřev*

Úvod

Estery kyseliny ftalové, též estery kyseliny benzen-1,2-dikarboxylové, jsou hojně využívány v průmyslu, známé jsou jako změkčovadla do plastů (Stanley et al., 2003). Vlivem vysoké produkce ftalátů se vyskytují i v prachu domácností a rozvíjí alergické reakce, DEHP pak způsobuje astma u dětí (Bornehag et al., 2004). Při studiích na zvířatech působí estery kyseliny ftalové toxicky na reprodukční systém (Matsumoto et al., 2008), stejně tak způsobují u zvířat vývojové vady a rakovinu jater (David, Gans, 2003). Nařízení Komise (EU) č. 10/2011, které se zabývá plastovými předměty a materiály určenými pro kontakt s potravinami, udává specifické migrační limity (SML) jak pro DEHP ($1,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ potraviny) tak pro DBP ($0,3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ potraviny). Specifický migrační limit je množství dané látky, které nejvýše může být obsaženo v potravíně. Hodnota limitu by neměla představovat zdravotní riziko pro konzumenta potraviny.

Mikrovlnný ohřev využívá nejčastěji mikrovlnných vln o frekvenci 2450MHz, v ČR je tato frekvence pro mikrovlnný ohřev jediná povolená. Mikrovlnným ohřevem dochází

k nerovnoměrnému ohřevu, který je způsoben různým složením ohřívané potraviny, hlavně obsahem vody, hustota, iontová síla, měrné teplo aj. Některý materiál však není v mikrovlnném poli zahříván, např. papír, sklo, některé polymerní fólie (Voldřich, Koza, 2012). Plasty určené pro mikrovlnný ohřev jsou většinou vyrobené z polypropylenu, do kterého není nutné přidávat plastifikátory (Moreira et al., 2014). Plasty vystavené záhřevu uvolňují složky, včetně plastifikátorů (Nerín et al., 2002).

Materiál a metodika

Plastové nádoby byly zakoupeny v ČR. Byly analyzovány tři druhy plastových misek i s víčky, vždy v trojím opakování. První typ misky, označovaná 1.), byla miska kulatá se světle modrým víčkem, objem 0,55 l, typ obalu PP (polypropylen), vhodná pro mikrovlnný ohřev 400 W, max. 3 minuty, vyrobeno v Itálii. Druhý typ misky „2.“ byla hranatá miska se světle modrým víčkem, objem 350 ml, typ obalu PP, vhodná pro mikrovlnný ohřev, vyrobeno v EU. Třetí typ misky „3.“ byly hranaté misky s víčkem zelené, tmavě modré a červené barvy, objem 300 ml, typ obalu PP, nevhodná pro mikrovlnný ohřev, vyrobeno v EU. Plasty byly analyzovány dle metody Gajdůšková et al. (1996), změřeny na HPLC (vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií) s UV detekcí při 224 nm, pomocí kolony Zorbax Eclipse C8, mobilní fáze acetonitril. K vyhodnocení byl použit program Data Analysis (Agilent Technologie). Pro další zpracování dat byl použit Microsoft Excel a Statistica 12. Byl proveden Shapiro-Wilkův test normality, Grubbsův test pro odlehlé hodnoty, a t-test nezávislého výběru.

Výsledky a diskuze

Naměřené koncentrace dvou stanovovaných esterů kyseliny ftalové znázorňuje tabulka 1. Průměrné koncentrace a sumy koncentrací obou ftalátů pak vyobrazuje tabulka 2. Nejvyšší průměrná koncentrace DBP byla v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ u plastové misky 1.), nejvyšší koncentrace DEHP byla u víčka 2.). Nejnižší průměrná koncentrace pro DBP v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ byla zjištěna u misky 2.) a nejnižší průměrná koncentrace DEHP v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ byla stanovena u víčka 3.). Suma koncentrací obou stanovovaných esterů kyseliny ftalové v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ plastu vyšla nejnižší hodnota u víčka 3.), nejvyšší u víčka 2.).

Po provedení t-testu (tabulka 3) byl zjištěn statistický rozdíl středních hodnot při porovnání jednotlivých druhů analyzovaných misek a víček. Statisticky významný rozdíl byl u koncentrací DBP i DEHP na gram plastu i na dm^2 pro misku 1.) porovnáno s miskou 2.), také pro DEHP koncentrace u misek 2.) v porovnání s miskou 3.), pro DEHP u víčka 1.) porovnáno s víčkem 2.) a pro DEHP u víčka 2.) s víčkem 3.).

Ve studii Shen (2005) udává, že naměřili v plastových nádobách určených pro mikrovlnný ohřev koncentrace DBP $1,44 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a DEHP $8,72 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. V naší studii máme průměrné koncentrace DEHP nižší, než ve studii Shen (2005) a průměrné koncentrace DBP vyšší, než ve zmiňované studii.

Tabulka 1: Naměřené koncentrace dibutyl ftalátu (DBP) a di(2-ethylhexyl) ftalátu (DEHP)

Druh analyzovaného plastu	DBP $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ plastu	DEHP $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ plastu	DBP $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ plastu	DEHP $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ plastu
miska 1.)	3,08	1,30	27,50	11,56
miska 1.)	2,82	0,92	25,89	8,49
miska 1.)	2,85	1,88	26,83	17,68
miska 2.)	1,83	6,83	19,52	72,72
miska 2.)	1,86	7,46	19,34	77,77
miska 2.)	1,78	6,93	19,77	76,97
miska 3.)	2,86	4,22	34,25	50,64
miska 3.)	3,11	3,08	40,95	40,67
miska 3.)	1,63	1,19	19,19	14,04
víčka 1.)	2,45	1,33	27,15	14,71
víčka 1.)	2,40	1,86	26,12	20,29
víčka 1.)	3,04	3,56	33,55	39,28
víčka 2.)	2,28	7,34	29,74	95,92
víčka 2.)	1,77	7,78	23,60	103,89
víčka 2.)	2,18	9,28	28,84	122,61
víčka 3.)	1,70	1,03	13,94	8,40
víčka 3.)	2,40	0,77	20,44	6,52
víčka 3.)	2,82	1,10	24,45	9,56

Tabulka 2: Průměrné koncentrace dibutyl ftalátu (DBP) a di(2-ethylhexyl) ftalátu (DEHP) a sumy průměrů obou esterů kyseliny ftalové

Druh analyzovaného plastu	DBP $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ plastu	DEHP $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ plastu	DBP $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ plastu	DEHP $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ plastu	Σ DBP a DEHP $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ plastu	Σ DBP a DEHP $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ plastu
miska 1.)	2,92	1,37	26,74	12,58	4,28	39,31
miska 2.)	1,82	7,07	19,54	75,82	8,90	95,36
miska 3.)	2,53	2,83	31,46	35,12	5,37	66,58
víčka 1.)	2,63	2,25	28,94	24,76	4,88	53,70
víčka 2.)	2,08	8,13	27,40	107,47	10,21	134,87
víčka 3.)	2,31	0,96	19,61	8,16	3,27	27,77

Tabulka 3: Statistický rozdíl středních hodnot koncentrací dibutyl ftalátu (DBP) a di(2-ethylhexyl) ftalátu (DEHP)

Porovnávaný analyzovaný plastu	druh plastu	DBP $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ plastu	DEHP $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ plastu	DBP $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ plastu	DEHP $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ plastu
miska 1.) x 2.)	-	-	-	-	-
miska 1.) x 3.)	+	+	+	+	+
miska 2.) x 3.)	+	-	+	-	-
víčka 1.) x 2.)	+	-	+	-	-
víčka 1.) x 3.)	+	+	+	+	+
víčka 2.) x 3.)	+	-	+	-	-

Pozn. - označuje hodnoty $p < 0,05$, tzn. statisticky významný rozdíl středních hodnot

+ označuje hodnoty $p > 0,05$, tzn. statistická shodnost středních hodnot

1.) miska kulatá se světle modrým víkem, materiál PP, vhodná pro mikrovlnný ohřev

2.) miska hranatá se světle modrým víkem, materiál PP, vhodná pro mikrovlnný ohřev

3.) miska hranatá s barevnými víky, materiál PP, nevhodná pro mikrovlnný ohřev

Závěr

V našem výzkumu, kde jsme zjišťovali dva estery kyseliny ftalové dibutyl ftalátu (DBP) a di(2-ethylhexyl) ftalátu (DEHP) ve dvou typech misek určených pro mikrovlnný ohřev a u jednoho typu misky, která nebyla určena pro mikrovlnný ohřev. Sumy koncentrací obou esterů kyseliny ftalové byly nejvyšší u víčka ($10,21 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) s miskou ($8,90 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) označená v naší práci 2.), která byla určena pro mikrovlnný ohřev. Nejnižší sumu z průměrů obou stanovovaných koncentrací esterů kyseliny ftalové mělo pak víčko označené 3.), které bylo z misky neurčené pro mikrovlnný ohřev.

Literatura

- Bornehag, C. G., Sundell, J., Weschler, C. J., Sigsgaard, T., LUNDGREN, B., Hasselgren M., Hägerhed-Engman, L. The Association between Asthma and Allergic Symptoms in Children and Phthalates in House Dust: A Nested Case-Control Study. *Environmental Health Perspectives* [online]. 2004, 112(14), 1393-1397 [cit. 2018-08-30]. ISSN 0091-6765. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1247566/>
- David, R. M., Gans, G. Summary of Mammalian Toxicology and Health Effects of Phthalate Esters. In: Staples, C. A. (ed): *The Handbook of Environmental Chemistry*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2003, 299-316. ISBN 3-540-00992-2.
- Gajdůšková, V., Jarošová, A., Ulrich, R. Occurrence of phthalic acid esters in food packaging materials. *Potravinářské Vědy*, 1996, 14, 99-108. ISSN 0862-8653.
- Matsumoto, M., Hirata-Koizumi, M., Ema, M. Potential adverse effects of phthalic acid esters on human health: A review of recent studies on reproduction. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* [online]. 2008, 50(1), 37-49 [cit. 2018-08-29]. ISSN 02732300. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0273230007001316>
- Moreira, M., André, L., Cardeal, Z. Analysis of Phthalate Migration to Food Simulants in Plastic Containers during Microwave Operations. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2014, 11(1), 507-526 [cit. 2018-08-25]. ISSN 1660-4601. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1660-4601/11/1/507/>
- Nariadení Komise (EU) č. 10/2011 ze dne 14. ledna 2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami Text s významem pro EHP, Úř. věst. L 12, 15.1.2011, s. 1-89
- Nerín, C., Acosta, D., Rubio, C. Potential migration release of volatile compounds from plastic containers destined for food use in microwave ovens. *Food Additives and Contaminants* [online]. 2002, 19(6), 594-601 [cit. 2018-08-25]. ISSN 0265-203X. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02652030210123887>
- Shen, H. Y. Simultaneous screening and determination eight phthalates in plastic products for food use by sonication-assisted extraction/GC-MS methods. *Talanta* [online]. 2005, 66(3), 734-739 [cit. 2018-08-30]. ISSN 00399140. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914004007337>
- Stanley, M. K., Robillard, K. A., Staples, C. A. Introduction. In: Staples, C. A. (ed): *The Handbook of Environmental Chemistry*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2003, 1-7. ISBN 3-540-00992-2.
- Voldřich, M., Koza, V. Mikrovlnný, dielektrický, infračervený a ohmický ohřev. In: Kadlec, P., Melzoch, K., Voldřich, M., a kol.: *Procesy a zařízení potravinářských a biotechnologických výroby*. Ostrava: KEY Publishing s.r.o., 2012, 403-416. ISBN 978-80-7418-086-6.

Poděkování

Tato práce byla podpořena Interní grantovou agenturou Agronomické fakulty MENDELU projektem IP-2018/059 „Vliv tepelných záhřevů na koncentrace esterů kyseliny ftalové v balených potravinách“.

Kontaktní adresa

Ing. Marcela Jandlová
Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta, Ústav technologie potravin
Zemědělská 1, 613 00 Brno,
e-mail: marcela.jandlova@mendelu.cz

Vplyv spôsobu prípravy základnej suspenzie na počet mikromycét vo vajciach

Influence of initial suspension preparation on the count of micromycetes in table eggs

Jevinová, P., Regecová, I., Demjanová, S., Pipová, M., Roba, P., Bartkovský, M.
Univerzita veterinárneho lekárstva a farmácie Košice

Súhrn

Cieľom tejto štúdie bolo určiť najvhodnejší spôsob stanovenia počtu mikroskopických vláknitých húb na vaječnej škrupine a vaječnom obsahu v závislosti od spôsobu prípravy základnej suspenzie a kultivačného média. Celkovo bolo vyšetrených 150 ks slepačích vajec pochádzajúcich z klieťového chovu hmotnostnej skupiny M skladovaných 28 dní. Najvhodnejšou metódou na stanovenie počtu mikromycét na vaječnej škrupine je metóda oplachom s riediacim roztokom 0,1 % peptónová voda s prídavkom 0,05 % Tweenu na kultivačnom médiu DRBC. Celkovo touto metódou bolo na vaječnej škrupine stanovených $5,7 \cdot 10^2 \pm 5,8 \cdot 10^2$ KTJ.vajce. V prípade výsledkov stanovenia počtu mikroskopických húb vo vaječnom bielku a žĺtku nebol zaznamenaný výrazný vplyv Tweenu na ich celkový počet. Vyššie počty mikroskopických húb boli stanovené v žĺtku riedeného 0,1 % peptónovou vodou na kultivačnom médiu DRBC ($2,3 \cdot 10^2 \pm 2,4 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹).

Abstract

The aim of this study was to find the most appropriate method for enumeration of microscopic filamentous fungi on the egg shell surface, as well as in the egg contents depending on both the preparation of the initial suspension and the type of culture medium. The total of 150 chicken eggs (weigh category M, enriched cages) were inspected within the storage for 28 days. Rinsing the egg shell with 0.1 % peptone water with addition of Tween (0.05 %), followed by cultivation on the surface of DRBC medium was proved to be the most suitable method for enumerating micromycetes on the egg shell. The total number of moulds on the egg shell determined by this method was $5.7 \times 10^2 \pm 5.8 \times 10^2$ CFU/egg. Counts of microscopic fungi in the egg whites were not significantly influenced by addition of Tween. On the contrary, higher counts of microscopic fungi were determined in egg yolks diluted with 0.1 % peptone water and spread on the surface of DRBC medium ($2.3 \times 10^2 \pm 2.4 \times 10^2$ CFU/g⁻¹).

Kľúčové slová: vajce, DRBC, DG-18, Tween, mikromycéty

Úvod

Nakoľko spóry mikroskopických vláknitých húb (MVH) sa vyskytujú na povrchu všetkých vajec, aj vajcia patria k rizikovým potravinám, u ktorých sa sleduje ich prítomnosť. Ich množstvo závisí hlavne od hygieny znáškových hál, priestorov ošetrovania a podmienok skladovania vajec (Halaj a Golian, 2011).

V prípade vhodných podmienok dochádza ku vyklíčeniu spór a rastu MVH. V počiatocnom štádiu pozorujeme prítomnosť malých ohraničených kolónií na povrchu škrupiny, pričom farba týchto kolónií závisí od druhu mikromycét. Mikroskopické vláknité huby svojimi hýfami ľahko prerastajú pórmi do podškrupinovej blany, ktorú rozrušujú a spolu s ostatnými baktériami napádajú vaječný obsah. Najideálnejším

prostredím pre život mikroorganizmov je vaječný žltok, ktorý je zároveň aj najcitlivejší na kontamináciu, pretože neobsahuje obranné (bakteriostatické) látky proti mikroorganizmom (Hejlová, 2001). Horizontálna metóda na stanovenie počtu kvasiniek a plesní v potravinách a krmivách je stanovená normou STN EN ISO 21527, ktorá pozostáva z 2 častí. Táto metóda z pohľadu veľkej rozmanitosti potravín a krmív nemusí v každom detaile vyhovovať všetkým výrobkom. V takýchto prípadoch sa môžu použiť iné metódy, ktoré sú špecifické pre tieto výrobky, s tým, že vždy sa využijú všetky možnosti, ktoré z tejto metódy vyplývajú. Samotné stanovenie počtu mikromycét v potravinách a krmivách nebýva vždy presné, pretože tvoria zmes mycélia a spór (nepohlavných a pohlavných) (STN EN ISO 21527, 2008).

Cieľom tejto štúdie bolo určiť najvhodnejší spôsob stanovenia počtu mikroskopických vláknitých húb na vaječnej škrupine a vaječnom obsahu v závislosti od spôsobu prípravy základnej suspenzie a kultivačného média.

Materiál a metodika

V tejto práci bolo vyšetrených 150 ks slepačích vajec pochádzajúcich z kliečkového chovu hmotnostnej skupiny M. Tieto vajcia boli po znáške vytriedené označené a uskladnené v skladoch prevádzkovateľa chovu. Každých sedem dní bolo odobratých 30 ks vajec a podrobených mikrobiologickému vyšetreniu zameranému na stanovenie mikroskopických vláknitých húb podľa pokynov STN ISO 21527.

Základné suspenzie vyšetovaných vzoriek vaječnej škrupiny, bielka a žĺtka boli pripravené homogenizáciou podľa pokynov STN ISO 21527. V prípade vaječnej škrupiny sme zvolili ešte prípravu základnej suspenzie metódou oplachu (Cupáková a kol., 2010).

Ako riediaci roztok sme použili 0,1 % peptónovú vodu a 0,1 % peptónovú vodu s prídavkom 0,05 % povrchovo-aktívneho činidla Tween 80. Následne sme z takto pripravených suspenzií pripravili ďalšie desaťnásobné riedenia postupom podľa STN EN ISO 6887-1. Z jednotlivých riedení sme odobrali objem 0,2 cm³, ktorým sme metódou rozteru inokulovali povrch kultivačných médií DRBC a DG-18.

Inokulované misky sme inkubovali aeróbne v termostate pri teplote 25 °C ± 1 °C po dobu 5 dní (platne s kultivačným médiom DRBC) a 7 dní (platne s DG-18 médiom).

Výsledky a diskusia

Samotné stanovenie počtu mikroskopických vláknitých húb sa líši od stanovenia baktérií a kvasiniek. Vegetatívny rast mikroskopických vláknitých húb tvoria hýfy, ktoré sa ťažšie oddeľujú od substrátu a počas homogenizácie dochádza k fragmentácii mycélia, čím sa zvyšuje počet života schopných jednotiek. Tento fakt môže nastať čo môže spôsobiť značné zvýšenie počtu života schopných jednotiek, často bez veľkého nárastu biomasy. Ďalším častým problémom je to, že sa vyskytuje nelinearita počtov získaných na miskách z riedení. Pripisuje sa to fragmentácii mycélia a rozbitiu zhlukov spór v priebehu prípravy riedení, ako aj kompetitívnej inhibícii, ak sa na miskách nachádza veľký počet kolónií (STN ISO 21527). Z tohto dôvodu je dôležité aj pri vyšetrení vajec zvoliť vhodnú metódu stanovenia mikroskopických vláknitých húb.

Pre lepšiu dispergáciu spór vláknitých húb sa odporúča prídavok Tweenu 80 – povrchovo aktívnej látky dobre rozpustnej vo vode (STN ISO 21527). Tento fakt potvrdzujú aj výsledky tejto práce (Tabuľky 1 – 2).

Tabuľka 2: Výsledky kvantitatívneho stanovenia mikromycét vo vaječnej škrupine

Kul. média	Deň	OBT (KTJ.vajce)	OST (KTJ.vajce)	DBT (KTJ.g ⁻¹)	DST (KTJ.g ⁻¹)
DRBC	1.	9,0.10 ¹ ± 9,6.10 ¹	1,2.10 ² ± 1,4.10 ²	3,0.10 ¹ ± 6,7.10 ¹	1,0.10 ¹ ± 2,2.10 ¹
	7.	1,7.10 ² ± 7,5.10	1,4.10 ² ± 1,2.10 ²	1,0.10 ² ± 3,5.10 ¹	8,0.10 ¹ ± 4,5.10 ¹
	14.	7,0.10 ¹ ± 4,4.10 ¹	1,2.10 ² ± 1,0.10 ²	6,2.10 ¹ ± 6,9.10 ¹	1,0.10 ¹ ± 2,2.10 ¹
	21.	7,0.10 ¹ ± 5,7.10 ¹	1,0.10 ² ± 7,0.10 ¹	4,0.10 ¹ ± 5,4.10 ¹	1,0.10 ¹ ± 2,2.10 ¹
	28.	1,4.10 ² ± 5,3.10 ¹	9,0.10 ¹ ± 1,4.10 ²	5,0.10 ¹ ± 8,2.10 ¹	1,9.10 ² ± 8,5.10 ¹
	Spolu:		5,4.10² ± 3,3.10²	5,7.10² ± 5,8.10²	2,8.10² ± 3,1.10²
DG-18	1.	9,0.10 ¹ ± 7,4.10 ¹	5,0.10 ¹ ± 5,0.10 ¹	1,0.10 ¹ ± 2,2.10 ¹	< 50
	7.	8,0.10 ¹ ± 9,1.10 ¹	1,1.10 ² ± 9,6.10 ¹	6,0.10 ¹ ± 5,5.10 ¹	6,3.10 ¹ ± 7,1.10 ¹
	14.	8,0.10 ¹ ± 7,6.10 ¹	7,0.10 ¹ ± 2,7.10 ¹	2,0.10 ¹ ± 2,7.10 ¹	3,0.10 ¹ ± 2,7.10 ¹
	21.	3,0.10 ¹ ± 2,7.10 ¹	5,0.10 ¹ ± 6,1.10 ¹	2,0.10 ¹ ± 2,7.10 ¹	2,0.10 ¹ ± 2,7.10 ¹
	28.	1,1.10 ² ± 6,9.10 ¹	5,0.10 ¹ ± 0	< 50	3,8.10 ¹ ± 6,1.10 ¹
	Spolu:		3,9.10² ± 3,4.10²	3,8.10² ± 2,3.10²	1,1.10² ± 1,3.10²

„OBT“ – metóda oplachu bez pridania Tweenu 80; „OST“ – metóda oplachu s pridaním Tweenu 80; „DBT“ – homogenizácia drvením bez pridania Tweenu 80; „DST“ – homogenizácia drvením s pridaním Tweenu 80.

Tabuľka 3: Výsledky kvantitatívneho stanovenia mikromycét vo vaječnom bielku a vo vaječnom žĺtku

Kul. média	Deň	Vaječný bielok		Vaječný žĺtok	
		BT (KTJ.g ⁻¹)	ST (KTJ.g ⁻¹)	BT (KTJ.g ⁻¹)	ST (KTJ.g ⁻¹)
DRBC	1.	1,0.10 ¹ ± 2,2.10 ¹	< 50	< 50	< 50
	7.	1,0.10 ¹ ± 2,2.10 ¹	< 50	1,10 ¹ ± 2,2.10 ¹	2,0.10 ¹ ± 4,5.10 ¹
	14.	< 50	2,0.10 ¹ ± 2,7.10 ¹	1,10 ¹ ± 2,2.10 ¹	2,0.10 ¹ ± 4,5.10 ¹
	21.	1,0.10 ¹ ± 2,2.10 ¹	< 50	2,10 ¹ ± 2,7.10 ¹	< 50
	28.	3,0.10 ¹ ± 6,7.10 ¹	4,0.10 ¹ ± 6,5.10 ¹	1,9.10 ² ± 1,7.10 ²	4,0.10 ¹ ± 4,2.10 ¹
	Spolu:	6,0.10¹ ± 1,3.10²	6,0.10¹ ± 9,3.10²	2,3.10² ± 2,4.10²	6,0.10¹ ± 1,3.10²
DG-18	1.	6,0.10 ¹ ± 6,5.10 ¹	< 50	2,0.10 ¹ ± 2,7.10 ¹	1,0.10 ¹ ± 2,2.10 ¹
	7.	< 50	1,0.10 ¹ ± 2,2.10 ¹	< 50	8,0.10 ¹ ± 5,7.10 ¹
	14.	1,0.10 ¹ ± 2,2.10 ¹	< 50	< 50	1,0.10 ¹ ± 2,2.10 ¹
	21.	1,0.10 ¹ ± 2,2.10 ¹	1,0.10 ¹ ± 2,2.10 ¹	1,0.10 ¹ ± 2,2.10 ¹	2,0.10 ¹ ± 2,7.10 ¹
	28.	< 50	2,0.10 ¹ ± 2,7.10 ¹	4,0.10 ¹ ± 5,5.10 ¹	5,0.10 ¹ ± 7,1.10 ¹
	Spolu:	8,0.10¹ ± 1,1.10²	4,0.10¹ ± 7,2.10¹	7,0.10¹ ± 1,0.10²	1,7.10² ± 2,0.10²

„BT“ - Homogenizácia bez pridania Tweenu 80; „ST“ - Homogenizácia s pridaním Tweenu 80;

Ako vyplýva z výsledkov uvedených v tabuľke 1 vhodnejšou metódou na stanovenie počtu mikromycét na vaječnej škrupine je metóda oplachom s riediacim roztokom 0,1 % peptónová voda s prídavkom 0,05 % Tweenu na kultivačnom médiu DRBC. Celkovo touto metódou bolo na vaječnej škrupine stanovených $5,7 \pm 5,82 \cdot 10^2$ KTJ.vajce.

V prípade výsledkov stanovenia počtu mikroskopických húb vo vaječnom bielku a žĺtku nebol zaznamenaný výrazný vplyv Tweenu na ich celkový počet. Vyššie počty mikroskopických húb boli stanovené v žĺtku riedeného 0,1 % peptónovou vodou na kultivačnom médiu DRBC ($2,3 \cdot 10^2 \pm 2,4 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹) a v žĺtku riedeného 0,1 % peptónovou vodou s 0,05 % Tweenom na kultivačnom médiu DG-18 ($1,7 \cdot 10^2 \pm 2,0 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹) (Tabuľka 2).

Pre rast a osmotickú výživu mikroskopických vláknitých húb a klíčenie spór je nevyhnutné vhodné prostredie, a to najmä množstvo dostupnej (a_w) v prostredí, resp. v substráte. Podľa autorky Šilhánková, (1983) vo všeobecnosti sú mikroskopické vláknité huby schopné rásť pri a_w od 1 do 0,6 a nižšie. Priemerná hodnota aktivity vody vaječnej škrupiny testovaných vzoriek sa pohybovala okolo 0,91. Na základe tejto hodnoty, by sa počet mikroskopických húb mal stanovovať podľa pokynov STN 21527-2, metódou počítania kolónií vo výrobkoch s $a_w \leq 0,95$ na kultivačnom médiu DG-18. No vyššie počty mikroskopických húb sme zaznamenali na kultivačnom médiu DRBC.

Záver

Na základe výsledkov tejto práce odporúčame na stanovenie počtu mikroskopických vláknitých húb na vaječnej škrupine použiť metódu oplachom s riediacim roztokom 0,1 % peptónová voda s prídavkom 0,05 % Tweenu 80. Na kvantitatívne stanovenie MVH na vaječnej škrupine a vo vaječnom obsahu ďalej odporúčame použiť kultivačné médium DRBC, aj napriek tomu, že priemerná hodnota a_w vaječnej škrupiny bola stanovená 0,91.

Literatúra

Cupáková, Š., Karpíšková, R., Necidová, L. Mikrobiologie potravin Praktická cvičení II. In Brno. 2010, s.22-31, ISBN 978-80-7305-126-6.

Halaj, M., Golian, J. Vajce – biologické, technické a potravinárske využitie. In Nitra: Garmond. 2011, 1.vyd., s. 224, ISBN 978-80-89148-70-7.

Hejlová, Š. Hygiena a technológia vajec a vaječných výrobků. In Brno. 2001, s.72, ISBN 809027758-6.

STN EN ISO 6887-1 Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Úprava analytických vzoriek, príprava základnej suspenzie a desaťnásobných riedení na mikrobiologické skúšanie. Časť 1: Všeobecné pokyny na prípravu základnej suspenzie a desaťnásobných riedení (ISO 6887-1: 2017).

STN ISO 21527-1 Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu kvasiniek a plesní: Časť 1: Metóda počítania kolónií vo výrobkoch s aktivitou vody väčšou ako 0,95 (STN ISO 21527-1: 2008).

STN ISO 21527-2 Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu kvasiniek a plesní: Časť 2: Metóda počítania kolónií vo výrobkoch s aktivitou vody menšou ako 0,95 alebo rovnajúcou sa 0,95 (STN ISO 21527-2: 2008).

Šilhánková, L. Mikrobiologie pro potravináře. Praha: SNTL, 1983, s. 259-260, ISBN 2-94, 255-256.

PodĎakovanie

Táto práca bola podporená grantom VEGA MŠ SR č. 1/0705/16.

Kontaktná adresa

MVDr. Pavlína Jevinová, PhD., UVLF v Košiciach, Katedra hygieny a technológie potravín, Ústav hygieny a technológie mäsa, Komenského 73, 041 81 Košice, e-mail: pavlina.jevinova@uvlf.sk

**Stanovenie rezíduí inhibičných látok v tkanivách brojlerových kurčiat
po fortifikácii krmiva humínovými kyselinami**
*Detection of residues of inhibitory substances in the tissues of broiler
chickens after fortification of feed with humic acids*

Juščáková, D., Kožárová, I., Marcinčák, S.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Cieľom práce bolo stanoviť prítomnosť rezíduí inhibičných (antimikrobiálnych, AML) látok v tkanivách brojlerových kurčiat (svalovina, srdce, pečeň, žalúdok, obličky, pľúca, slezina, koža, tuk) a v šťave získanej z vyšetovaných tkanív bez a po skrmovaní krmnej zmesi s prídavkom humínových kyselín. K stanoveniu rezíduí boli použité tri mikrobiologické screeningové metódy, screeningový test na stanovenie rezíduí antibiotík s použitím piatich bakteriálnych kmeňov (metóda STAR), Premi®Test a Explorer 2.0 test. Všetky tri screeningové metódy detegovali pozitívne, resp. dubiózne výsledky a poukázali na prítomnosť rezíduí AML v tkanivách všetkých experimentálnych skupín brojlerových kurčiat. Vzhľadom na dosiahnuté výsledky a možnú prítomnosť falošne pozitívnych (nezhodných) výsledkov je potrebné pozitívny výsledok potvrdiť kvantitatívnou konfirmačnou analýzou.

Abstract

The goal of the study was to detect the presence of residues of inhibitory substances (antimicrobials) in the tissues of broiler chickens (muscle, heart, liver, gizzard, kidney, lungs, spleen, skin, fat) and in the juice obtained from the examined tissues without and after feeding the feed mixture with humic acids. Three microbiological screening methods were used to determine the residues, screening assay for antibiotic residues using five bacterial strains (STAR), Premi®Test and Explorer 2.0 test. All three screening methods detected positive, respectively dubious results and showed the presence of antimicrobial residues in the tissues of all experimental groups of broiler chickens. Taking into account the results achieved and the possible presence of false (non-compliant) results, the positive results should be confirmed by a quantitative confirmatory analysis.

Kľúčové slová: *hydina, humínové kyseliny, rezíduá, stanovenie*

Úvod

Zvieratá určené na produkciu potravín sú úzko prepojené s verejným zdravím. Za účelom efektívnejšieho využitia krmiva a zlepšenie trávenia sa začali pridávať do krmív rôzne chemické látky, ako probiotiká, prebiotiká, humínové látky, enzýmy a tiež mikrobiologické kultúry, atď. Tieto látky zvyšujú využitie živín, zlepšujú účinnosť konverzie krmiva a udržiavajú zdravotný stav. Už počas niekoľkých rokov sa zaradenie probiotík a humínových látok do živočíšnej výživy uprednostňuje pred antibiotikami, a to najmä preto, že nespôsobujú žiadne škodlivé účinky pre konzumenta (Marcinčáková a kol., 2018). Humínové látky sú prírodné komplexotvorné ligandy, ktoré vznikajú rozkladom rastlinných a živočíšnych zvyškov pôsobením enzymatickej činnosti mikroorganizmov za obmedzeného prístupu vzduchu (Šamudovská a Demeterová, 2011). Obsiahnuté v krmive sa používajú na zvýšenie produktivity, ako prevencia chorôb (najmä

gastrointestinálnych), zníženie úhynu v juvenilnom štádiu a zlepšenie zdravotného stavu, kondície a exteriéru (Vaško a Vajda, 2009). Od roku 2015 Európska komisia povolila humínové látky vo výžive zvierat, ako produkt ktorý vznikol prírodnou humifikáciou rastlinných zložiek (Humac Portal, 2017). Humínové kyseliny, ako potentné AML môžu predstavovať riziko prítomnosti rezíduí v živočíšnych produktoch. Rezíduá AML sú v živočíšnych produktoch povinne kontrolované (Smernica Rady 96/23/ES). Pre prvotný screening rezíduí AML v tkanivách potravinových zvierat sú príslušným orgánom Slovenskej republiky schválené nasledovné úradné metódy laboratórnej diagnostiky potravín, platňová metóda STAR (R – 25, 2006) a liekovková metóda Premi®Test (R – 26, 2006). Medzi ďalšie testy odporúčané na účely kontroly rezíduí vo svete patrí Explorer 2.0 test. Vzhľadom k tomu, že screeningové metódy predstavujú prvý stupeň v kontrole rezíduí AML v produktoch živočíšneho pôvodu, uvedené metódy boli použité aj na screening rezíduí AML v tkanivách hydiny po experimentálnej úprave krmiva prídavkom humínových kyselín.

Materiál a metodika

V experimente boli použité brojlerové kurčatá hybrid COBB 500 rozdelené do štyroch experimentálnych skupín po 50 ks. Kontrolná skupina (KS 1 a KS 2) a pokusná skupina (PS 1 a PS 2) boli kŕmené rovnakými komerčnými kŕmnymi zmesami (KKZ) BR1, BR2 a BR3 (DeHeus, ČR). KKZ BR1 obsahovala prídavok nikarbazínu v množstve 101 mg.kg⁻¹ a KKZ BR2 prídavok salinomycínu sodného v množstve 70 mg.kg⁻¹. Skupine KS 2 a PS 2 bol ako prídavok pridávaný ku KKZ prípravok Humac Natur AFM (HUMAC s.r.o., Košice, obsah humínových kyselín minimálne 65 %) v koncentrácii 0,8 %, počas celej doby výkrmu. Počas celého obdobia výkrmu mali kurčatá prístup k vode a ku krmivu *ad libitum*. Na 40. deň veku boli brojlerové kurčatá usmrtené povoleným spôsobom a tkanivá boli zabalené, označené a skladované pri teplote -20 °C do analýzy. Na analýzu bolo použitých 12 tkanív z každej experimentálnej skupiny zvierat (ľavá prsná svalovina (PSĽ), ľavá horná a dolná stehenná svalovina (SSHL, SSDĽ), srdce, pečeň, žalúdok, obličky, pľúca, slezina, koža a svalovina z krídla, tuk) a mäsová šťava (tkanivová tekutina) z týchto tkanív.

STAR: Princípom metódy je agarový difúzny test, pri ktorom sa na piatich Petriho miskách používajú testovacie kmene s citlivosťou: agar s pH 7,2 s *Bacillus subtilis* na aminoglykozidy, agar s pH 8 s *Kocuria varians* na makrolidy a beta-laktámy, agar s pH 6 s *Bacillus cereus* na tetracyklíny, agar s pH 8 s *Escherichia coli* na chinolóny, agar s pH 7,4 s *Bacillus stearothermophilus* na beta-laktámy a sulfónamidy. Testovacie platne boli pripravené podľa postupu metódy. Vzorky vyšetřovaných tkanív boli získané z matric použitím sterilného korkovrtu (Ø 9 mm), narezané sterilným skalpelom na disky s hrúbkou 2 mm a poukladané na povrch testovacích agarových platní. Vzorky mäsovej šťavy boli získané rozmrazením 3 g vzorky v mikrovlnnej rúre nastavením na „Defrost“ po dobu 2 ± 1 min. Uvoľnená mäsová šťava bola aplikovaná na povrch testovacích platní pomocou papierových diskov (Ø 9 mm, Albet Lab Science, Nemecko, 30 µl). Inkubácia prebiehala pri podmienkach stanovených metódou.

Premi®Test a Explorer 2.0: Princípom oboch testov je širokospektrálny agarový difúzny test v liekovkách s testovacím kmeňom *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*. 100 µl získanej mäsovej šťavy sa aplikovalo do liekoviek. Liekovky boli najskôr preinkubované a následne inkubované podľa pokynov uvedených výrobcami oboch testov (R–Biopharm AG, Nemecko; Zeu-Inmunotec, Španielsko).

Výsledky a diskusia

Metóda STAR: Výsledky boli stanovené meraním veľkostí inhibičných zón (IZ) od okraja vyšetrovanej vzorky po vonkajší okraj IZ pomocou digitálneho posuvného meradla s presnosťou na 0,01 mm. Vzorky boli považované za pozitívne, ak IZ bola ≥ 2 mm na platniach *B. subtilis*, *B. cereus*, *E. coli*, *K. rhizophila* a ≥ 4 mm na platniach *B. stearothermophilus*.

Premi®Test a Explorer 2.0: Výsledky boli stanovené posúdením farby dolných dvoch tretín agarového média. Fialové, resp. žlté/fialové sfarbenie pevného média poukazuje na prítomnosť rezíduí AML vo vyšetrovanej vzorke, ktorých množstvo je nad úroveň (pozitívna vzorka), resp. na úrovni (dubiózna vzorka) detegovateľnosti testov. Výsledky stanovenia rezíduí AML v tkanivách brojlerových kurčiat experimentálnych skupín PS 1, KS 1, PS 2 a KS 2 pomocou metódy STAR, Premi®Testu a Explorer 2.0 testu sú prezentované v Tabuľke 1 a 2.

Vyšetrením tkanív metódou STAR sme zistili pri skupinách s prídavkom humínových kyselín (PS 2, KS 2) nárast veľkosti IZ (pozitívnych výsledkov) predovšetkým na platniach s testovacími kmeňmi *Bacillus stearothermophilus* a *Kocuria rhizophila*. Podobné výsledky sme zistili aj pri vyšetrení tkanív Premi®Testom a Explorer 2.0 testom.

Tabuľka 4: Výsledky stanovenia screeningu rezíduí antimikrobiálnych látok vo vyšetrovaných matriciach experimentálnych skupín PS 1 a KS 1 pomocou metódy STAR, Premi®Test a Explorer 2.0 test

Skupina zvierat	Matrica	STAR										Premi®Test	EXPLORER
		<i>B.stearothermophilus</i> IZ (mm+SD)		<i>B.subtilis</i> IZ (mm+SD)		<i>B.cereus</i> IZ (mm+SD)		<i>E.coli</i> IZ (mm+SD)		<i>K.rhizophila</i> IZ (mm+SD)			
		T	Š	T	Š	T	Š	T	Š	T	Š		
PS 1 BR2+SAL	PSĽ	2,74 ± 0,69	/	/	/	/	/	/	/	0,77 ± 0,20	1,77 ± 0,18	±	+
	SSLH	3,17 ± 0,15	3,80 ± 1,51	/	/	/	/	/	/	/	/	-	-
	SSLD	4,28 ± 0,70	/	/	/	/	/	/	/	/	/	-	-
	SRDCE	7,69 ± 0,49	5,27 ± 0,27	/	/	/	/	/	/	1,01 ± 0,26	4,50 ± 0,32	±	±
	PEČEŇ	11,38 ± 0,43	5,24 ± 0,41	2,33 ± 0,85	/	/	/	/	/	3,71 ± 0,27	0,67 ± 0,16	-	±
	ŽALÚDOK	4,01 ± 0,20	4,09 ± 0,24	/	/	/	/	/	/	/	3,89 ± 0,34	-	-
	OBLIČKY	7,72 ± 1,01	3,60 ± 0,51	/	/	/	/	/	/	1,34 ± 0,13	1,41 ± 0,29	-	-
	PLŮCA	9,98 ± 0,95	5,40 ± 0,23	2,87 ± 0,45	3,29 ± 0,28	/	/	/	/	3,10 ± 0,83	0,93 ± 0,54	-	-
	SLEZINA	11,05 ± 0,71	4,92 ± 0,69	/	/	/	/	/	/	2,54 ± 0,14	/	-	±
	KOŽA KRÍDLA	4,15 ± 0,19	3,14 ± 0,35	/	/	/	/	/	/	/	/	-	-
	KOŽA SVAL	4,59 ± 0,17	4,78 ± 0,54	/	/	/	/	/	/	0,78 ± 0,27	/	±	±
TUK	4,54 ± 0,48	2,26 ± 1,17	/	/	/	/	/	/	2,04 ± 0,80	/	+	-	
KS 1 BR3	PSĽ	3,63 ± 0,27	/	/	/	/	/	/	/	2,34 ± 0,51	/	-	±
	SSLH	4,97 ± 0,59	/	/	/	/	/	/	/	1,09 ± 0,50	/	-	±
	SSLD	4,46 ± 0,45	/	/	/	/	/	/	/	2,13 ± 0,42	/	-	+
	SRDCE	5,45 ± 0,78	/	/	/	/	/	/	/	15,36 ± 1,56	11,71 ± 0,47	+	+
	PEČEŇ	6,88 ± 2,44	3,76 ± 0,29	/	/	/	/	/	/	3,13 ± 0,38	5,00 ± 0,79	±	+
	ŽALÚDOK	3,05 ± 0,41	1,86 ± 0,39	/	/	/	/	/	/	12,42 ± 1,07	/	+	+
	OBLIČKY	7,71 ± 0,44	3,04 ± 0,16	/	/	/	/	/	/	2,73 ± 0,41	4,32 ± 0,40	-	±
	PLŮCA	9,48 ± 1,27	6,27 ± 0,13	/	/	/	/	/	/	3,87 ± 0,79	1,32 ± 0,23	±	+
	SLEZINA	12,22 ± 0,12	/	/	/	/	/	/	/	4,23 ± 0,39	/	±	+
	KOŽA KRÍDLA	3,98 ± 1,92	1,37 ± 0,27	/	/	/	/	/	/	1,88 ± 0,75	/	-	+
	KOŽA SVAL	2,87 ± 0,38	2,69 ± 0,22	/	/	/	/	/	/	14,01 ± 0,56	11,76 ± 1,10	±	±
TUK	1,11 ± 0,23	2,06 ± 0,24	/	/	/	/	/	/	/	/	+	+	

Legenda: Zvýraznené veľkosti IZ predstavujú pozitívne výsledky; mm – milimeter; SD – smerodajná odchýlka; + pozitívna vzorka; - negatívna vzorka; ± dubiózna vzorka; T – tkanivo; Š – mäsová šťava

Premi®Test v skupine PS 1 detegoval 1 pozitívny výsledok a 3 dubiózne výsledky. V skupine KS 1 detegoval tri pozitívne a štyri dubiózne výsledky. V skupine PS 2 boli detegované štyri dubiózne výsledky a v skupine KS 2 dva pozitívne a jeden dubiózny výsledok. Ostatné tkanivá boli detegované negatívne. Explorer 2.0 test v skupine PS 1 detegoval 1 pozitívny výsledok a 4 dubiózne výsledky. V skupine KS 1 detegoval

8 pozitívnych a 4 dubiálne výsledky. V skupine PS 2 boli detegované 2 pozitívne výsledky a 5 dubiálnych výsledkov. V skupine KS 2 boli detegované 2 pozitívne a 3 dubiálne výsledky. Ostatné tkanivá boli detegované negatívne.

Tabuľka 5: Výsledky stanovenia screeningu rezíduí antimikrobiálnych látok vo vyšetrovaných matriciach experimentálnych skupín PS 2 a KS 2 pomocou metódy STAR, Premi®Test a Explorer 2.0 test

Skupina zvierat	Matrica	STAR										Premi®Test	EXPLORER
		<i>B.stearothermophilus</i> IZ (mm+SD)		<i>B.subtilis</i> IZ (mm+SD)		<i>B.cereus</i> IZ (mm+SD)		<i>E.coli</i> IZ (mm+SD)		<i>K.rhizophila</i> IZ (mm+SD)			
		T	Š	T	Š	T	Š	T	Š	T	Š		
PS 2 BR2+SAL + HK	PSL	4,97 ± 0,23	1,25 ± 0,16	/	/	/	/	/	/	1,72 ± 0,28	3,17 ± 0,60	±	+
	SSLH	5,56 ± 0,54	4,85 ± 0,37	/	/	/	/	/	/	1,19 ± 0,60	1,89 ± 0,40	±	±
	SSLD	4,25 ± 0,17	2,83 ± 0,30	/	/	/	/	/	/	1,74 ± 0,28	0,60 ± 0,21	-	-
	SRDCE	6,12 ± 0,63	6,05 ± 0,40	/	/	/	/	/	/	/	/	±	±
	PEČEŇ	9,29 ± 0,18	6,43 ± 0,26	2,00 ± 0,35	/	/	/	/	/	3,60 ± 0,33	/	±	+
	ŽALÚDOK	4,11 ± 0,40	2,77 ± 0,25	/	/	/	/	/	/	/	2,62 ± 0,43	-	-
	OBLIČKY	9,62 ± 0,48	3,15 ± 0,50	/	/	/	/	/	/	1,70 ± 0,46	2,47 ± 0,62	-	±
	PLÚCA	10,64 ± 0,86	9,62 ± 0,88	/	/	/	/	/	/	3,39 ± 0,25	/	-	±
	SLEZINA	10,75 ± 0,73	2,34 ± 0,27	/	/	/	/	/	/	3,40 ± 0,25	/	-	±
	KOŽA KRÍDLA	5,86 ± 0,40	/	/	/	/	/	/	/	1,35 ± 1,15	/	-	-
	KOŽA SVAL	5,96 ± 0,62	2,45 ± 0,28	/	/	/	/	/	/	1,25 ± 0,96	0,59 ± 0,11	-	-
TUK	5,91 ± 1,01	5,40 ± 0,46	/	/	/	/	/	/	/	/	-	-	
KS 2 BR3 + HK	PSL	6,64 ± 1,38	4,42 ± 0,31	/	/	/	/	/	/	14,06 ± 0,67	12,45 ± 0,57	±	±
	SSLH	5,98 ± 0,20	2,63 ± 0,37	/	/	/	/	/	/	15,31 ± 0,47	12,03 ± 1,52	-	±
	SSLD	4,33 ± 0,16	4,11 ± 0,29	/	/	/	/	/	/	14,23 ± 0,56	9,91 ± 0,91	-	±
	SRDCE	5,24 ± 0,63	4,45 ± 0,37	/	/	/	/	/	/	13,57 ± 1,07	5,26 ± 1,36	-	-
	PEČEŇ	7,41 ± 0,65	/	/	/	/	/	/	/	3,95 ± 0,26	/	-	-
	ŽALÚDOK	2,61 ± 0,82	4,18 ± 0,14	/	/	/	/	/	/	11,93 ± 1,52	1,91 ± 0,34	-	-
	OBLIČKY	7,51 ± 0,49	5,66 ± 0,26	/	/	/	/	/	/	2,74 ± 0,84	0,95 ± 0,20	-	-
	PLÚCA	10,26 ± 0,24	6,73 ± 0,55	/	/	/	/	/	/	4,15 ± 0,40	2,12 ± 0,32	-	-
	SLEZINA	10,05 ± 0,46	/	/	/	/	/	/	/	3,59 ± 0,36	/	-	-
	KOŽA KRÍDLA	5,16 ± 0,28	/	/	/	/	/	/	/	3,66 ± 0,97	/	+	+
	KOŽA SVAL	2,55 ± 0,28	2,69 ± 0,32	/	/	/	/	/	/	13,22 ± 1,32	9,76 ± 0,89	-	-
TUK	2,35 ± 0,53	/	/	/	/	/	/	/	/	/	+	+	

Legenda: Zvýraznené veľkosti IZ predstavujú pozitívne výsledky; mm – milimeter; SD – smerodajná odchýlka; + pozitívna vzorka; - negatívna vzorka; ± dubiálna vzorka; T – tkanivo; Š – mäsová šŕava

Záver

Screening rezíduí AML v tkanivách brojlerových kurčiat je veľmi dôležitý pre ochranu verejného zdravia a garanciu bezpečnosti potravín. Vzhľadom na súčasné alternatívy krmného režimu hydiny vykazujúce antimikrobiálne účinky, prídavok humínových kyselín do KKZ brojlerových kurčiat sa prejavil inhibičným účinkom na niektoré bakteriálne kmene využívajúce sa k stanovovaniu rezíduí AML v potravinách živočíšneho pôvodu. Je preto dôležité, aby každá látka zodpovedná za inhibíciu rastu testovacieho kmeňa a pozitívny výsledok bola identifikovaná a kvantifikovaná následnou konfirmačnou analýzou.

Literatúra

Humac Portal. *Certifikát o voľnom predaji*. [cit. 15. 5. 2017]. Dostupné na internete: <https://humac-portal.eu/certificate/humac-natur-afm-pufer/>
 Marcinčáková, D., Kostilníková, N., Jaduttová, I., Mellen, M., Mačanga, J., Bartkovský, M., Váczi, P., Marcinčák, S. Účinok prídavania 1 % humínových látok do krmných zmesí brojlerov na výťažnosť a chemické zloženie mäsa. In *Zborník prednášok a posterov z medzinárodnej vedeckej konferencie "Hygienu Alimentorum XXXIX"*, Košice: UVLF. 2018, s. 130-134. ISBN 978-80-8077-580-3.

Smernica Rady 96/23/ES z 29. apríla 1996 o opatreniach na monitorovanie určitých látok a ich rezíduí v živých zvieratách a živočíšnych produktoch a o zrušení smerníc 85/358/EHS a 86/469/EHS a rozhodnutí 89/187/EHS a 91/664/. Dostupné na internete: <https://eurlex.europa.eu/legalcontent/SK/TXT/PDF/?uri=CELEX:31996L0023&qid=1524228445%20397%20&from=SK>

Šamudovská, A., Demeterová, M. Využitie Beta-1,3/1,6-D-glukánu a jeho kombinácii s oxihumolitom v produkcii brojlerových kurčiat, *IX. Kábrtovy dietetické dny*, 2011, s.104-108.

Vaško, L., Vajda, V. Humínové kyseliny vo výžive a ich vplyv na metabolizmus a produkčné zdravie, Univerzita veterinárneho lekárstva Košice; 2009. dostupné na: https://www.vetservis.sk/media/object/364/huminove_kyseliny_vo_vyzive_a_ich_vplyv_na_metabolizmus_a_produkcne_zdravie.pdf

http://www.svssr.sk/dokumenty/zakladne_info/Diagnostika/R%2026%20PREMi%20test.pdf

http://www.svssr.sk/dokumenty/zakladne_info/Diagnostika/R%2025%20STAR%20test.pdf

PodĎakovanie

Spracovanie príspevku bolo podporené projektmi VEGA MŠVVaŠ SR a SAV č. 1/0576/17 a APVV-14-0397.

Kontaktná adresa

MVDr. Daniela Juščáková

UVLF v Košiciach, Katedra hygieny a technológie potravín

Ústav hygieny a technológie mäsa

Komenského 73, 04181 Košice,

e-mail: Daniela.Juscakova@student.uvlf.sk

Spotreba dopekaných mrazených výrobkov na Slovensku *Consumption of frozen bakery products in Slovakia*

Kolesárová, A., Zeleňáková, L., Gažarová, M., Mareček, J., Mrázová, J.,
Kopčeková, J., Iváková, M.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

V našej prehľadovej práci sme analyzovali spotrebu chleba a pečiva na Slovensku, o ktorej údaje vydáva Štatistický úrad Slovenskej republiky. Opísali sme rozvíjajúci sa trend spotreby mrazeného dopekaného pečiva. Údaje o spotrebe sú zo 142 predajní nemenovanej obchodnej siete na Slovensku od roku 2009 do roku 2017. Analyzovali sme výhody aj nevýhody mrazených dopekaných výrobkov. Tieto výrobky majú podobné vlastnosti ako čerstvé, ale ich kvalita a senzorické vlastnosti sa znižujú dĺžkou skladovania. Významné známky starnutia sa začínajú javiť už po štyroch hodinách od dopečenia.

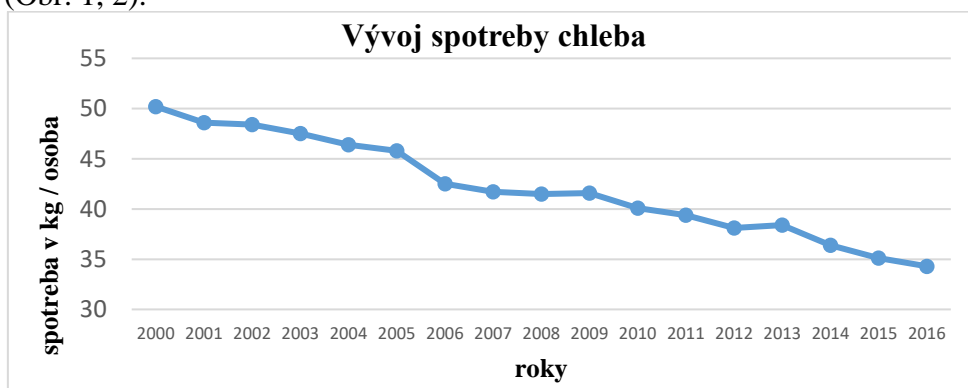
Abstract

In our survey work, we analysed the bread and pastry consumption in Slovakia published by the Statistical Office of the Slovak Republic. We have described the increasing trend in consumption of frozen (prebaked) bakery products. Consumption data are from 142 shops of one (unnamed) trading network in Slovakia from 2009 to 2017. We analysed the advantages and disadvantages of frozen bakery products. These products have similar properties to fresh ones but their quality and sensory properties are reduced by storage duration. Significant signs of aging begin to appear after four hours of baking.

Kľúčové slová: konzumácia, pekárske produkty, dopekané mrazené pečivo

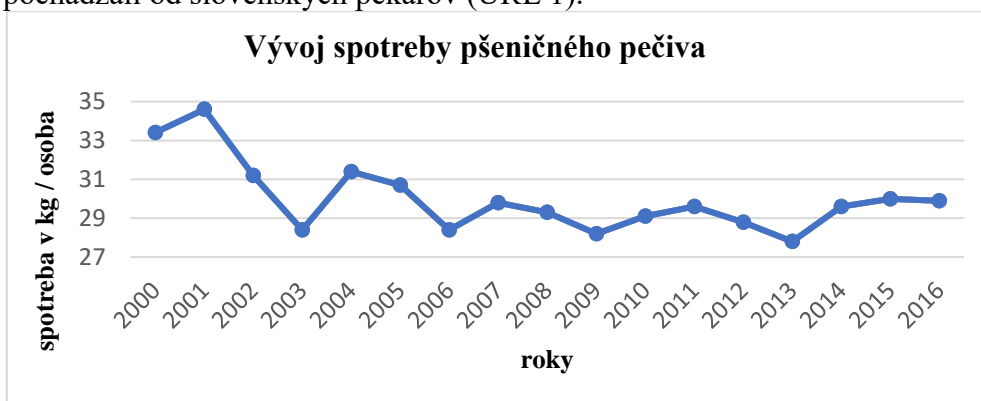
Úvod

Chlieb a pečivo sú neoddeliteľnou súčasťou nášho jedálnička. Vo výžive a spotrebe majú významné postavenie. Poskytujú energiu, najmä vo forme sacharidov, sú zdrojom esenciálnych živín, vlákniny a fytochemikálií. V súčasnosti je chlieb jednou z najrozšírenejších potravín na svete, zohráva dôležitú úlohu vo folklóre, náboženstve, kultúre a politike (Gibson, 2018). Údaje zo Štatistického úradu Slovenskej republiky hovoria o tom, že spotreba chleba a pečiva na Slovensku každým rokom klesá (Obr. 1, 2).



Obrázok 1: Graf spotreby chleba na Slovensku za obdobie 2000-2016 (Štatistický úrad SR)

Kým priemerná spotreba na obyvateľa v roku 2000 bola 83,6 kilogramu chleba spolu s bežným pečivom, v roku 2005 to už bolo 76 kilogramov a aktuálne je to 65,1 kilogramu. Na jedného obyvateľa pritom spotreba chleba v roku 2015 predstavovala 35 kilogramov a 30 kilogramov bežného pečiva. Za posledných 15 rokov tak spotreba na obyvateľa klesla o 20 % až 22 %. Napríklad v Českej republike je spotreba približne o 40 % vyššia (Baričák, 2017). Tomuto trendu nepomáha ani fakt, že v roku 2017 sa podľa prieskumov Slovenskej poľnohospodárskej a potravinárskej komory na pultoch obchodných sietí nachádzalo len 54 % chleba a 53 % pečiva, ktoré pochádzali od slovenských pekárov (URL 1).



Obrázok 2 Graf spotreby pšeničného pečiva v SR za obdobie 2000-2016 (Štatistický úrad SR)

Mrazené dopekané výrobky

Čerstvý chlieb má krátku trvanlivosť, prechádza rôznymi fyzikálno-chemickými zmenami. Chuť a textúra čerstvého chleba sa rýchlo mení, stráca aj svoju čerstvosť a krehkosť, zatiaľ čo kôrka tvrdne. Prijemná chuť čerstvého chleba sa stratí a nahradí ju bridlicová chuť. Prekonať tieto problémy spojené s pokročilými technologickými postupmi výroby čerstvého chleba bolo veľkou výzvou (Rashidi, 2016). Ako jeden z výhodných postupov sa stalo zmrazovanie, ktoré je vhodným spôsobom konzervovania chleba, cesta a udržania akosti. V roku 1950 boli prvýkrát komerčne vyrobené a zmrazené pekárske výrobky. Od toho roku sa vyvíja veľa úsilia na zlepšenie kvality zmrazených výrobkov (Rashidi, 2016). Mrazené cesto sa široko využíva vo veľkých pekárňach hlavne kvôli komfortnosti. Takto spracované cesto znižuje čas potrebný na prípravu cesta, zvyšuje trvanlivosť produktov, uľahčuje distribúciu na vzdialené miesta (Choongjin, 2016). Segment trhu v pekárstve sa neustále zvyšuje. Zmrazovanie bolo dôležitým krokom pre toto odvetvie, ktoré umožnilo zefektívniť pracovný čas a uľahčilo mnohým firmám vyrábať "čerstvý pečený" chlieb v obchodoch, baroch, reštauráciách, atď. Zatiaľ čo zmrazovanie pomohlo zvýšiť trvanlivosť výrobkov (Bárceñas a Rosell, 2006; Selomulyo a Zhou, 2007; Yi a Kerr, 2009), je známe, že spôsob mrazenia a skladovania negatívne ovplyvňuje kvalitu mrazeného cesta, poškodzuje štruktúru, znižuje fermentačnú aktivitu kvasníc, čo následne ovplyvňuje kvalitu konečných výrobkov (Luo et al., 2018).

Podľa Baričáka (2017) má dopekané pečivo výživovú hodnotu podobnú klasickému čerstvému pečivu. Dopekané pečivo však začína javiť významné známky starnutia už po štyroch hodinách od dopečenia. Pri šokovom zmrazení a skladovaní dochádza k odparovaniu vody z pečiva a retrogradácii škrobu. Tým sa mení textúra striedky.

Keď sa cesto vystaví teplotám pod nulou, voľná voda uniká a vytvára ľadové kryštály, ktoré môžu rásť a poškodzovať sieť lepku počas skladovania (Naito et al., 2004; Bárcenas a Rosell, 2006; Yi a Kerr, 2009; Meziani et al., 2012). Tieto ľadové kryštály tiež môžu ovplyvniť bunkovú membránu kvasiniek, čo vedie k ich zníženej životaschopnosti (Naito et al., 2004; Yi a Kerr, 2009). Rovnaké výsledky uvádza Choongjin et al. (2016), ktorí skúmali, ako mrazenie pôsobí na maslový croissant. Zistili, že hlavným faktorom je veľkosť ľadových kryštálov, ktoré vznikajú pri mrazení v polotovare a ovplyvňujú životaschopnosť kvasiniek. Veľkosť kryštálov narúša cytoplazmatickú membránu bunky, ktorá následne nie je schopná ďalej žiť. Kvalita croissantu bola horšia s dobou skladovania v mraziacom sklade. Croissant pri pečení nenabral objem, a aj pevnosť bola odlišná. Optimálna teplota zmrazovania je -3,19 °C, ktorú dosahujeme pomaly a optimálna teplota skladovania je -20 °C.

Ďalším viditeľnejším rozdielom je, že pri porovnateľnej gramáži je objem dopekaného pečiva väčšinou podstatne nižší ako pri čerstvom. Súvisí to s odparením vody. Oproti bežnému pečivu sa do dopekaných výrobkov pridávajú aj ďalšie zlepšujúce prípravky, napríklad na báze koloidov, ako je guarová guma, ktoré zabraňujú odparovaniu vody a strate objemu počas doby skladovania v mraziacich boxoch (Baričák, 2017). Rashidi et al. (2016) sa vo svojej štúdií zamerali na skladovacie podmienky a senzorické vlastnosti mrazeného pečiva voči čerstvému pečivu. Uvádzajú, že mrazené pečivo má veľmi podobné vlastnosti ako čerstvé. Problém nastáva pri dĺžke skladovania zmrazeného pečiva. Od nej vlastne závisí aj jeho kvalita. Čím dlhšie sa skladuje, tým viac sa znižuje jeho kvalita a senzorické vlastnosti. Takéto pečivo je viac „gumené“ a textúra pečiva je viac porušená.

Spotreba mrazeného pečiva sa v poslednej dobe zvyšuje v pekárňach, supermarketoch a reštauráciách po celom svete. V maloobchodoch používanie mrazeného pečiva znamená úsporu času, priestoru, personálu, vybavenia a iných maloobchodných nákladov (Rashidi, 2016).

Trend na Slovensku

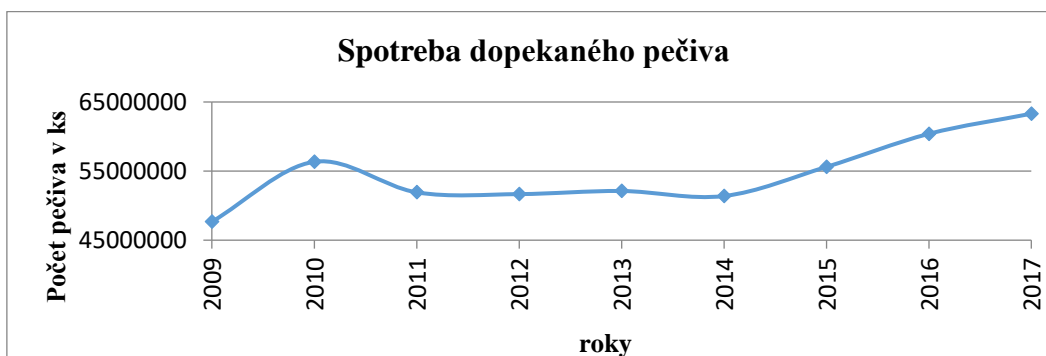
Spotreba chleba a mierne aj pečiva na Slovensku klesá, ale na druhej strane môžeme vidieť stúpajúci trend v spotrebe dopekaného (mrazeného) pečiva. Údaje o spotrebe tohto pečiva sme získali a spracovali zo 142 predajní nemenovanej obchodnej siete na Slovensku od roku 2009 do roku 2017 (Tab. 1 a Obr. 3).

Tabuľka 1: Spotreba dopekaného (mrazeného) pečiva v kusoch za nasledujúce roky v SR. Zdroj: vlastné spracovanie

Rok	Pečivo dopekané (mrazené)
2009	47 667 906
2010	56 343 285
2011	51 924 099
2012	51 669 944
2013	52 121 667
2014	51 388 880
2015	55 610 273
2016	60 394 073
2017	63 305 645

Tento narastajúci trend je spôsobený šetrením nákladov obchodníkov v dôsledku dopytu trhu, ale aj vďaka jednoduchšej príprave. Dopekané pečivá slúžili na to, aby v obchode

bolo vždy "čerstvé" pečivo. Ešte v roku 2000 malo dopekané pečivo menšinové zastúpenie. Niektoré prevádzky len začínali s ponukou takéhoto druhu tovaru. Dnes ale dopekané pečivo tvorí zhruba 30-35 % celkovej spotreby pečiva. Vlni sa na Slovensko doviezlo až 43 000 ton dopekaného pečiva a približne ďalších 20 000 až 30 000 ton dopekaného pečiva sa na Slovensku vyrobilo. Podiel klasického čerstvého pečiva (predstavuje 65-70 %) je ale stále vyšší, ako dopekaného (Baričák, 2017).



Obrázok 3: Graf spotreby dopekaného pečiva. Zdroj: vlastné spracovanie

Ako zobrazuje graf na obrázku 3, obľuba mrazeného dopekaného pečiva u nás zažíva stúpajúci trend a teší sa popularite nielen u obchodníkov, ale aj u zákazníkov. Je to aj vďaka rozmanitosti a množstvu rôznych druhov. Zákazníci si majú možnosť vybrať z bieleho alebo celozrnného pečiva, z pečiva vyrábaného z rôznych iných ako len pšeničných múk, z pečiva rôznych tvarov a gramáží. Mrazené výrobky poskytujú určitý komfort zákazníkom mať prístup k „čerstvému pečivu“ v každom okamihu nepretržite počas dňa, aj keď podľa Vyhlášky MPRV SR č. 24/2014 Z. z. sa rozumie čerstvým pekárskym výrobkom pekársky výrobok, ktorý sa vyrába bez použitia predpečenia a ponúka sa spotrebiteľovi najneskôr do 24 hodín po upečení.

Je však vhodné podotknúť, že pekársky výrobok dopečený mimo pekárne, a teda je dopečený priamo v predajni alebo v domácnosti spotrebiteľa zo zmrazeného polotovaru, je nutné charakterizovať ako čerstvo dopečený. Spotrebiteľia ho v momente zakúpenia vnímajú ako čerstvý. Pokiaľ takýto výrobok kupujú v predajni, zo zákona je predajca povinný výrobok označiť ako „výrobok vyrobený dopečením zmrazeného polotovaru“. Takéto pečivo je vhodné na bezprostrednú konzumáciu, nanajvýš v deň zakúpenia (URL 2; Zákon č. 24/2014 Z. z.).

Záver

V dnešnej dobe sa dostupnosť pečiva a pekárskych výrobkov berie ako samozrejmosť. A preto vystávajú rôzne otázky, ktoré sa týkajú dostatočnej obozretnosti ľudí pri kupovaní pečiva. Pozorujeme stúpajúci trend v spotrebe mrazených dopekaných výrobkov. Mrazené cesto má prínos pre výrobcu i spotrebiteľov. Pre výrobcu môže mrazené cesto uľahčiť ich dodávanie, obchodovanie a maloobchodné schopnosti, a môže tiež zlepšiť trvanlivosť cesta. Zákazníkov v maloobchode zasa láka vôňa dopekaného pečiva v domnienke, že si kupujú to najčerstvejšie pečivo.

Literatúra

Bárceñas, M.E. Rosell, C.M. 2006. Effect of frozen storage time on the bread crumb and aging of par-baked bread. *Food Chemistry*, 95 (2006), pp. 438-445. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.023>

Baričák, V. 2017. Pekári sú v kritickom stave, problémom je aj dovoz výrobkov. Únia priemyselných pekárov Slovenska. Dostupné na: <http://www.teraz.sk/ekonomika/baricakpekari-su-v-kritickom-stave/263433-clanok.html>

Gibson, M. 2018. Food Science and the Culinary Arts, United Kingdom: Academic Press, 2018, 528 s. ISBN 978-0-12-811816-0. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811816-0.00010-5>.

Choongjin, B., Sangeun, Y., Jungwoo, H. 2016. Effects of freezing rate and terminal freezing temperature on frozen croissant dough quality. In Food Science and Technology, vol. 73, pp. 219-225. ISSN 0023-6438. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.05.045>.

Luo, W., Sun, D-W. Zhu, Z., Qi-Jun Wang, O.-J. 2018. Improving freeze tolerance of yeast and dough properties for enhancing frozen dough quality - A review of effective methods. Trends in Food Science & Technology, Volume 72, 2018, Pages 25-33. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.017>

Meziani, S., Ioannou, I. Jasniewski, J., Belhaj, N., Muller, J. M., Ghoul, M. et al. 2012. Effects of freezing treatments on the fermentative activity and gluten network integrity of sweet dough. LWT-Food Science and Technology, 46 (2012), pp. 118-126. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.10.017>

Naito, S. Fukami, Y. Mizokami, N. Ishida, H. Takano, M. Koizumi, et al. 2004. Effect of freeze-thaw cycles on the gluten fibrils and crumb grain structures of breads made from frozen dough. Cereal Chemistry, 81 (1) (2004), pp. 80-86. Dostupné na: <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2004.81.1.80>

Rashidi, A., HadiNezhad, M., Rajabzadeh, N., Yarmand, M.-S., Nemati, S. 2016. Frozen baguette bread dough I. Rheological behavior during storage. Journal of Cereal Science, 72 (2016), pp. 24-29. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.08.014>

Selomulyo, V.O., Zhou. W. Frozen bread dough: effects of freezing storage and dough improvers. Journal of Cereal Science, 45 (2007), pp. 1-17. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.10.003>

Štatistický úrad SR. [online]. Dostupné na: http://www.statistics.sk/pls/elisw/objekt.send?uic=465&m_sso=2&m_so=40&ic=5

URL 1 Budúcnosť pekárstva na Slovensku je podľa slovenských pekárov ohrozená [online]. Dostupné na: <https://www.webnoviny.sk/buducnost-pekarsstva-na-slovensku-je-podla-slovenskych-pekarov-ohrozena/>

URL 2 Ako podporiť čerstvosť v regáloch? [online]. Dostupné na: <http://www.retailmagazin.sk/produkt/potravinarsky-sortiment/1233-ako-podporit-cerstvost-peciva-v-regaloch>

Vyhláška č. 24/2014 Zb. Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky z 23. januára 2014 o pekárskych výrobkoch, cukrárskych výrobkoch a cestovinách.

Yi, J., Kerr, W.L. 2009. Combined effects of dough freezing and storage conditions on bread quality factors. Journal of Food Engineering, 93 (2009), pp. 495-501. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.02.018>

Pod'akovanie

Práca bola finančne podporená projektom KEGA č. 007SPU-4/2017 „Prepojenie teórie a praxe v študijnom programe Bezpečnosť a kontrola potravín implementovaním moderných didaktických technológií v rámci rôznych foriem vzdelávania“.

Kontaktná adresa

Ing. Anna Kolesárová, PhD., SPU v Nitre, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Katedra skladovania a spracovania rastlinných produktov, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: Anna.Kolesarova@uniag.sk

**Konzumácia mäsa a jeho vplyv na lipidový profil u pacientov
s infarktomyokardu**
*Consumption of the meat and its impact on lipid profile in patients with
infarct myocard*

**Kopčeková, J., Gažarová, M., Mrázová, J., Kolesárová, A., Habánová, M.,
Vozárová, D.**

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

Incidenca kardiovaskulárnych ochorení sa na celom svete rýchlo zvyšuje a v súčasnosti sa považuje za hlavnú príčinu smrti v rozvojových aj rozvinutých krajinách. Cieľom tejto štúdie bolo zhodnotiť konzumáciu mäsa a jeho vplyv na lipidový profil u pacientov s infarktovým myokardom (IM). Ako hodnotiacu skupinu bola vybraná skupina 275 osôb (195 mužov, 80 žien) hospitalizovaných v Kardiocentre Nitra. Potrebné údaje boli získané dotazníkom prostredníctvom usmerňovaného rozhovoru. Zhromažďovanie údajov sa uskutočnilo súčasne s biochemickým vyšetrením probandov. Analyzované boli celkový cholesterol (CH), HDL, LDL a triacylglyceroly (TG). Analýza výživy ukázala, že najviac konzumovaným mäsom bolo hydinové a bravčové. Hydinové mäso konzumovalo viac ako 4-krát týždenne 51,13 % pacientov, ktorí mali vyššie hodnoty lipidových parametrov. Priemerné hladiny celkového cholesterolu boli 4,52 - 5,74 mmol.l⁻¹ a vyššie hladiny boli pri frekvencii spotreby 5-6-krát týždenne a 2-krát týždenne. Pri nadmernej konzumácii bravčového mäsa sme pozorovali vyššie hodnoty CH, LDL a TG. Najvyššie hladiny cholesterolu sme zistili pri jeho dennej spotrebe – ženy (6,00 mmol.l⁻¹) a muži (5,25 mmol.l⁻¹). Ako súčasť primárnej prevencie IM je dôležité konzumovať pestro, umiernené a vyvážené, obmedzovať príjem nasýtených a trans-mastných kyselín a jednoduchých cukrov.

Abstract

The incidence of cardiovascular diseases is rapidly increasing worldwide and is currently considered to be the leading cause of death in both developing and developed countries. The aim of this study was to evaluate the consumption of the meat and its impact on lipid profile in patients with infarct myocard (IM). As an evaluation group was chosen a group of 275 people including 195 men and 80 women hospitalized in Kardiocentrum Nitra. The necessary data were determined by questionnaire through guided conversation. Data collection was carried out simultaneously with biochemical examination of the probands ensured by the Kardiocentrum Nitra. The following parameters were analysed: total cholesterol (CH), HDL, LDL and triacylglycerols (TG). Nutritional history showed that the most consumed meat was poultry and pork. Poultry meat consumed more than 4 times a week 51.13% of patients who had higher values of lipid parameters. The average total cholesterol levels were from 4.52 to 5.74 mmol.l⁻¹ and higher levels were at the consumption frequency 5-6 times weekly and twice weekly. In excessive consumption of pork meat we observed higher values of total cholesterol, LDL and triacylglycerols. The highest cholesterol levels were recorded in its daily consumption – women (6.00 mmol.l⁻¹) and men (5.25 mmol.l⁻¹). As part of the primary prevention of IM it is important to eat variety, moderately and balanced, limit saturated fatty acids, trans-fatty acids and refined sugars.

Kľúčové slová: *kardiovaskulárne ochorenie, rizikové faktory, lipidový profil, výživa, mäso*

Úvod

Podľa najnovšej epidemiologickej aktualizácie sú kardiovaskulárne ochorenia (KVO) najčastejšou príčinou smrti, spôsobujú 45 % všetkých úmrtí v Európe. Štatistiky naznačujú, že mortalita je vyššia u žien, ako u mužov. U Európskych žien sa zaznamenalo 49 % kardiovaskulárnych úmrtí a u mužov 40 % (Gianfredi, 2018). Akútny infarkt myokardu (IM) je jedna z najčastejších príčin mortality a morbidity. Najčastejším podkladom k vzniku infarktu myokardu je koronárna ateroskleróza. Akútny infarkt myokardu môže vzniknúť manifestáciou koronárnej aterosklerózy, alebo môže prebehnúť bez toho, aby bol diagnostikovaný, ale taktiež môže viesť k náhlemu úmrtiu alebo ťažkému poškodeniu ľavej (alebo aj pravej) komory, čoho následkom je ťažké hemodynamické zlyhanie (Van de Werf et al., 2008). Početné epidemiologické, experimentálne a klinické štúdie priniesli dostatok dôkazov o tom, že na vzniku KVO sa podieľajú rôzne rizikové faktory. Z najdôležitejších je to najmä životný štýl, ktorý sa na našom zdraví podieľa prevažnou mierou, a to až 50-60 %. Životné a pracovné prostredie ovplyvňuje naše zdravie na približne 20 %. Zvyšok, posledných 20 %, predstavuje zdravotná starostlivosť – preventívna starostlivosť a liečba (Kimáková, 2010). Prvý dôkaz o spojitosti medzi stravou a telesnou pohodou bol nájdený v šesťdesiatych rokoch minulého storočia po výsledkoch štúdie nazvanej štúdia siedmich krajín (Keys et al., 1986). Prvé výsledky tejto štúdie boli prekvapujúce, pretože jasne ukázali, že krajiny stredomorskej oblasti (Taliansko a Grécko) mali najnižší výskyt úmrtí na kardiovaskulárne choroby a rakovinu ako všetky ostatné krajiny (Sofi et al., 2016). Mnohé epidemiologické štúdie týkajúce sa ochorenia srdca a ciev a ich rizikových faktoroch hovoria, že vysoká konzumácia nasýtených a trans- mastných kyselín a nízka spotreba polynenasýtených mastných kyselín (MK), najmä n-3 polynenasýtených MK vplýva na hladiny cholesterolu (Eshak, 2017). Konzumácia potravín bohatých na nasýtené tuky a cholesterol, ako sú mäso, vaječný žĺtok a mliečne výrobky s vysokým obsahom tuku, je spojená so zvýšeným rizikom KVO (Brown et al., 2014). Hoci konzumácia mäsa je cenná pre zdroj bielkovín, železa, vitamínu B₁₂ a ďalších vitamínov B v ľudskej strave (Pereira a Vicente, 2013), jeho nadmerná spotreba ako sa zdá u mnohých západných národov môže byť spojená s obezitou, srdcovými chorobami, špecifickými druhmi rakoviny, diabetu a iných neprenosných chorôb (Aston et al., 2012; Huang et al., 2012; Pan et al., 2012). Červené mäso je dlhodobo považované za dôležitý zdroj bielkovín a základných živín vrátane železa, zinku a vitamínu B₁₂, no nedávne výskumy ukazujú, že jeho konzumácia môže zvýšiť riziko kardiovaskulárnych ochorení a rakoviny hrubého čreva, čo vedie k jeho negatívnemu vnímaniu na zdravie (McAfee et al., 2010). Cieľom práce bolo zistiť frekvenciu príjmu rôznych druhov mäsa a nájsť asociáciu medzi jeho konzumáciou a vplyvom na lipidové parametre u pacientov s infarktomyokardu.

Materiál a metodika

Súbor tvorilo 275 pacientov Kardiocentra Nitra, z toho 82 žien a 195 mužov, ktorí prekonali infarkt myokardu. Priemerný vek žien bol 62,58 rokov a priemerný vek mužov bol 60,9 rokov. Väčšina pacientov boli obyvatelia mesta Nitra, z ďalších miest napr. Trnava, Levice, Trenčín, Partizánske, Prievidza, Bánovce nad Bebravou, Zvolen

a Komárno. Informácie sme zbierali pomocou dotazníka, ktorý obsahovali 4 hlavné časti: osobnú anamnézu, nutričnú anamnézu, pitný režim a životný štýl. Biochemické analýzy pacientov po infarkte myokardu nám poskytlo Kardiocentrum Nitra. Biochemické nálezy pacientov tvorili hodnoty celkového cholesterolu, LDL, HDL a triacylglycerolov (TG). Na vyhodnotenie sme použili základné matematicko-štatistické ukazovatele (suma, priemer, smerodajná odchýlka) v MS Excel. Výsledky sme štatisticky hodnotili t- testom.

Výsledky a diskusia

Mäso býva často spájané so zvyšovaním rizika srdcových ochorení, pretože zvyšuje celkový príjem tukov, hlavne saturovaných. Mäso a tuk jatočných zvierat obsahuje variabilné množstvo nasýtených MK (asi 40 %), najviac sú zastúpené kyseliny palmitová a stearová, z mononenasýtených MK prevažuje kyselina olejová (40 – 45 %). Z polynenasýtených MK je najviac zastúpená kyselina linolová. Jej množstvo je však výrazne vyššie v živočíšnych zdrojoch, než v rastlinných (Sergyi et al., 2011). Escriba-Perez et al. (2017) sledovali konzumáciu mäsa u 800 respondentov vo veku 25 až 75 rokov. Najčastejšie konzumované bolo kuracie mäso, ktoré až 90,87 % respondentov konzumovalo aspoň raz týždenne. Druhé najčastejšie konzumované bolo hovädzie mäso (63,62 %), a tretie bravčové mäso (52,62 %). V konzumácii boli aj rozdiely medzi pohlaviami. Hovädzie mäso konzumovali častejšie muži, naproti tomu ženy konzumovali častejšie kuracie mäso. Hydinového mäsa je významným zdrojom aminokyselín, malého množstva tuku, vitamínov B₁₂, B₆. V chudom mäse sú viac zastúpené nenasýtené masťné kyseliny, než nasýtené. Významná je hlavne kyselina olejová (MUFA), ktorá tvorí 30 – 40 % tuku a esenciálna kyselina linolová (n-6) a linolénová (n-3) (PUFA). Mäso tiež obsahuje malé množstvo dlhých n-3 masťných kyselín, a to eikosapentanovú (EPA), dokosapentanovú (DPA) a dokosahexanovú (DHA) kyselinu (Williamson, 2005). Konzumácia hydiny bola u mužov aj žien z našej skupiny nadmerná, hlavne na úkor hovädzieho mäsa. Viac ako 4x za týždeň hydinové mäso konzumovalo až 44 žien (54,25 %) a 96 mužov (48 %). V tab. 1 vidíme, že vyššie hladiny celkového cholesterolu boli pri frekvencii konzumácie 5-6x týždenne a 2x týždenne u mužov aj žien, pričom u mužov bol rozdiel medzi týmito frekvenciami konzumácie štatisticky preukazný (P<0,05). Hodnoty HDL cholesterolu boli priaznivejšie pri menej častej konzumácii u oboch pohlaví. Najnižšie hodnoty LDL cholesterolu sme zaznamenali pri konzumácii 2x za mesiac. Zaznamenali sme štatisticky preukazný vplyv (P<0,05) konzumácie hydinového mäsa u žien na hladinu TG a u mužov na hladinu LDL cholesterolu v prospech zriedkavejšej konzumácie.

Tabuľka 1: Vplyv frekvencie konzumácie hydinového mäsa na hladiny krvných lipidov

Parameter (mmol.l ⁻¹)	Pohlavie	Frekvencia konzumácie				p ^a
		5-6x za týždeň	2x za týždeň	2x za mesiac	zriedkavo až vôbec	
CH	Ž	5,74	5,18	4,75	5,06	0,4422
	M	4,78	4,98	4,52	4,63	0,0291
HDL	Ž	1,37	1,42	1,12	1,71	0,1103
	M	0,96	1,13	1,18	1,16	0,9190
LDL	Ž	3,47	3,21	2,88	3,11	0,8380
	M	3,02	3,18	2,96	3,14	0,0465
TG	Ž	1,55	1,52	1,24	0,98	0,0229
	M	2,15	1,17	1,62	0,95	0,3845

^aStudentov t-test medzi frekvenciou konzumácie 5-6x za týždeň a 2x za týždeň

Hovädzie mäso je zdrojom vitamínov skupiny B, A, D, E, železa, bielkovín, nasýtených mastných kyselín. Jeho konzumácia v Slovenskej republike je veľmi slabá (Keresteš, 2011), čo korešponduje aj s našimi výsledkami. Dvakrát týždenne konzumovalo hovädzie mäso len 22 žien (27 %) a 53 mužov (27 %). Väčšina ľudí v tomto súbore konzumovalo hovädzie mäso 2x mesačne v podiele 25 žien (31 %) a 103 mužov (53 %). V mäse prežúvavcov je obsiahnuté aj malé množstvo trans-mastných kyselín, ktoré vznikajú prirodzenou hydrogenáciou cis-mastných kyselín vďaka bakteriálnej činnosti v čreve prežúvavcov. Trans-mastné kyseliny nepriaznivo ovplyvňujú pomer LDL a HDL cholesterolu, ktorý je rizikovým faktorom kardiovaskulárnych ochorení (Williamson, 2005). Mnohé analýzy podporujú spojenie medzi konzumáciou červeného mäsa a celkovou mortalitou a úmrtiami súvisiacimi s KVO, ako aj riziko pre KVO, ischemickú cievnu mozgovú príhodu a DM 2. Avšak táto asociácia bola v mnohých prípadoch spôsobená konzumáciou spracovaného a nie čerstvého červeného mäsa (Berciano et al., 2014; Brown a Hazen, 2014). V tab. 2 vidíme, že hodnoty cholesterolu boli najvyššie u žien aj u mužov pri frekvencii konzumácie 2x týždenne a 2x mesačne. Podobne aj LDL cholesterol dosahoval najvyššie hodnoty pri tej istej frekvencii konzumácie, avšak rozdiely neboli štatisticky preukazné. Najvyššie hodnoty HDL cholesterolu boli u mužov aj žien pri častejšej konzumácii, pričom sme zaznamenali u žien štatisticky preukazný vplyv rozdielnej frekvencie konzumácie ($P < 0,01$). Najnižšia hladina triacylglycerolov bola zaznamenaná pri zriedkavej konzumácii hovädzieho mäsa. Podľa štatistického úradu SR z roku 2015 je na Slovensku najvyššia spotreba bravčového mäsa (30,9 kg na osobu a rok), hydinového (14,1 kg na osobu a rok), ďalej nasleduje hovädzie mäso (4,3 kg na osobu a rok), zverina (0,9 kg na osobu a rok), baranie, kozie, konské (0,2 kg na osobu a rok), králiky a ostatné drobné zvieratá (0,2 kg na osobu a rok). Aj v našom prieskume sme zaznamenali jeho častú konzumáciu, nakoľko až 47 % žien a 56 % mužov ho konzumuje až 4x týždenne. Bravčové mäso je významným zdrojom plnohodnotných bielkovín, má vysoký obsah mastných kyselín s 18 uhlíkmi a tie sa považujú za cholesterolemické (Piňha, 2009). Najvyššie hladiny cholesterolu boli zaznamenané pri jeho každodennej konzumácii u oboch pohlaví (tab. 3). Podobne aj hodnoty LDL cholesterolu a TG boli najvyššie pri častejšej konzumácii.

Tabuľka 2: Vplyv frekvencie konzumácie hovädzieho mäsa na hladiny krvných lipidov

Parameter (mmol.l ⁻¹)	Pohlavie	Frekvencia konzumácie					p ^a
		5x za týždeň	4x za týždeň	2x za týždeň	2 x za mesiac	zriedkavo až vôbec	
CH	Ž	-	4,75	5,32	5,62	4,96	0,0750
	M	3,42	4,25	4,91	5,1	5,01	0,1426
HDL	Ž	-	1,32	1,18	1,42	1,32	0,0060
	M	1,21	1,25	1,15	1,12	1,08	0,3315
LDL	Ž	-	1,79	3,17	3,4	2,62	0,0741
	M	1,61	2,02	3,21	2,96	3,33	0,1087
TG	Ž	-	1,23	1,96	1,44	1,12	0,3780
	M	1,71	1,91	1,6	1,67	1,1	0,5711

^aStudentov t-test medzi frekvenciou konzumácie 2x za týždeň a 1-2x za mesiac

Tabuľka 3: Vplyv frekvencie konzumácie bravčového mäsa na hladiny krvných lipidov

Parameter (mmol.l ⁻¹)	Pohlavie	Frekvencia konzumácie					p ^a
		každý deň	4-5x za týždeň	1-2x za týždeň	2x za mesiac	vôbec	
CH	Ž	6,00	5,69	5,38	4,20	4,94	0,0839
	M	5,25	5,10	4,90	4,90	4,70	0,2857
HDL	Ž	1,11	0,69	1,33	1,50	1,65	0,1202
	M	1,16	1,12	1,14	1,18	1,32	0,8314
LDL	Ž	3,72	1,61	3,31	1,25	3,19	0,1183
	M	3,05	3,07	3,02	2,92	3,04	0,5455
TG	Ž	3,45	0,90	2,00	1,20	1,26	0,0092
	M	3,63	1,59	1,60	1,54	1,69	0,9435

^aStudentov t-test medzi frekvenciou konzumácie 2x za týždeň a 2x za mesiac

Konzumácia rýb je spojená s nižším výskytom KVO a ischemickej mozgovej príhody, najmä riziko smrti srdca medzi všeobecne zdravými populáciami. Ako vidieť v tab. 4, najoptimálnejšie hodnoty celkového a LDL cholesterolu sme zaznamenali u oboch pohlaví, ktorí konzumujú ryby 1-2x za týždeň, čo korešponduje aj s výživovými odporúčaniami.

Tabuľka 4: Vplyv frekvencie konzumácie rýb a rybích výrobkov na hladiny krvných lipidov

Parameter (mmol.l ⁻¹)	Pohlavie	Frekvencia konzumácie				p ^a
		1-2x za týždeň	2x za mesiac	občas	vôbec	
CH	Ž	5,39	5,47	5,70	5,78	0,0860
	M	4,68	4,70	4,70	4,97	0,4857
HDL	Ž	1,32	1,46	1,48	1,26	0,2263
	M	1,18	1,12	1,06	1,16	0,8344
LDL	Ž	2,98	3,33	3,46	3,02	0,1962
	M	2,93	3,05	3,02	3,20	0,7727
TG	Ž	1,19	1,87	1,42	1,17	0,7656
	M	1,58	1,50	1,79	2,09	0,2213

^aStudentov t-test medzi frekvenciou konzumácie 2x za týždeň a 2x za mesiac

V porovnaní s nekonzumovaním rýb, konzumácia 250 mg / deň EPA a DHA z rýb je spojená s 36 % nižšou úmrtnosťou na KVO (Sofie t al., 2016). Existujú presvedčivé vedecké dôkazy, že omega-3 polynenasýtené mastné kyseliny znižujú tvorbu prozápalových eikosanoidov a cytokínov a preto sa predpokladá, že konzumácia rýb chráni pred chorobami zahŕňajúcimi zápalové procesy (Wall et al., 2010). Predpokladá sa, že spotreba rýb a príjem omega-3 polynenasýtených mastných kyselín spomaľuje progresiu aterosklerózy (Massaro et al., 2008). Je dôležité poznamenať, že niektoré ryby majú vysoké množstvo ortuti a to môže tiež spôsobiť zvýšenie oxidácie a poškodenie srdca (Mozaffarian, 2009). Konzumácia rýb na Slovensku je nízka, čo sa potvrdilo aj v našom výskume, nakoľko iba 27,5 % žien a 25 % mužov ich konzumuje pravidelne.

Záver

Pri hodnotení nutričnej anamnézy sme zistili častú konzumáciu hydínového a bravčového mäsa a naopak, nízku konzumáciu hovädzieho mäsa a rýb. Pri častejšej konzumácii mäsa sme zaznamenali vyššie hodnoty celkového a LDL cholesterolu a nižšie hodnoty HDL cholesterolu. Spojenie medzi konzumáciou mäsa a výskytom chronických ochorení a úmrtnosti bolo hodnotené v stovkách pozorovacích epidemiologických štúdií za posledných niekoľko desaťročí. Napriek tomuto množstvu údajov nie je jasné, či zvýšené príjmy určitých skupín mäsa (napr. nespracované alebo spracované červené mäso) alebo určitých druhov (napr. hovädzie alebo bravčové mäso) nezávisle prispievajú k riziku ochorenia.

Literatúra

- Berciano, S., Ordovás, J. M. 2014. Nutrition and Cardiovascular Health. In *Revista Española de Cardiología (English Edition)*, roč. 67, 2004, č. 9, s. 738-747.
- Brown, J. M., Hazen, S. L. 2014. Metaorganismal nutrient metabolism as a basis of cardiovascular disease. In *Curr Opin Lipidol.*, roč. 25, 2014, s. 48-53.
- Eshak, S. E., Yamagishi, K., Iso, H. 2017. Dietary Fat and Risk of Cardiovascular Disease. In *Journal of Current Diabetes Reports*, roč. 14, 2017, č. 6, s. 493.
- Ghiasmand, M., Moghadamnia, T. M., Pourshaikhian, M., Kazemnejad, E. 2017. Acute triggers of myocardial infarction: A case-crossover study. In *Journal of The Egyptian Heart Journal*, roč. 69, 2017, č. 4, s. 223-228.

- Gianfredi, V., Salvatori, T., Nucci, D., Villarini, M., Moretti, M. 2018. Can chocolate consumption reduce cardio-cerebrovascular risk? A systematic review and meta-analysis. In *Journal of Nutrition*, roč. 46, 2018, č. 1, s. 103-114.
- Kimáková, T. 2010. Čo ovplyvňuje naše zdravie? In *Bedeker zdravia*, roč. 6, 2010, č. 1, s. 4.
- Massaro, M., Scoditti, E., Carluccio, M. A., Montinari, M. R., De Caterina, R. 2008. Omega-3 fatty acids, inflammation and angiogenesis: nutrigenomic effects as an explanation for anti-atherogenic and anti-inflammatory effects of fish and fish oils. In *J. Nutrigenet. Nutrigenomics.*, roč. 1, 2008, s. 4-23.
- Micha, R. et al. 2013. Processing of meats and cardiovascular risk: time to focus on preservatives. In *BMC Medicine*, roč. 11, 2013, č. 1, s. 136-138.
- Mozaffarian, D. 2009. Fish, mercury, selenium and cardiovascular risk: current evidence and unanswered questions. In *International Journal of Environmental Research and Public Health*, roč. 6, 2009, s. 1894–1916.
- Pan, A., Sun, Q., Bernstein, A. M., Schulze, M. B., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Willett, W. C., Hu, F. B. 2012. Red meat consumption and mortality: results from 2 prospective cohort studies. In *Arch. Intern. Med.*, roč. 172, s. 555-563.
- Pereira, P. M. et al. 2013. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. In *Meat science*, roč. 93, 2013, č. 3, s. 586-592.
- Pit'ha, J. - Poledne, R. 2009. Zdravá výživa pro každý den. Vyd. 1. Praha : Grada, 143 s. ISBN 978-80-247-2488-1.
- Sergiy, M. N., Redman, E. K. 2011. Mediterranean diet and cardioprotection: The role of nitrite, polyunsaturated fatty acids, and polyphenols. In *Nutrition*, roč. 27, 2011, č. 7, s. 733 – 744.
- Sofi, F., Macchi, C., Abbate, R., Gensini, G. F., Casini, A. 2014. Mediterranean diet and health status: an updated meta-analysis and a proposal for a literature-based adherence score. In *Journal of Health Nutrition*, roč. 17, 2014, č. 12, s. 2769-2782.
- Štatistický úrad Slovenskej republiky. 2015. *Pohľad na zdravotný stav obyvateľstva SR a jeho determinanty (Výsledky EHIS 2014)*. ISBN 978-80-8121-465-3.
- Van De Werf, F., Bax, J., Betriu, A. et al. 2008. Acute Myocardial Infarction in patients presenting with ST-segment elevation (Management of). In *European Heart Journal*, č. 29, s. 2909 – 2945.
- Williamson, C.S., Foster, R. K., Sstanner, S. A., Buttriss, L. 2005. Red meat in the diet. In *British Nutrition Foundation*, roč. 30, 2005, s. 323-355.

Pod'akovanie

Táto práca vznikla s podporou Grantovej agentúry SPU v Nitre: 01-GA SPU-17, s podporou Výskumného centra AgroBioTech vybudovaného v rámci projektu Vybudovanie výskumného centra „AgrobioTech“ (ITMS 26220220180) a projektu VEGA 1/0364/15.

Kontaktná adresa

Ing. Jana Kopčeková, PhD.
SPU v Nitre, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov
Katedra výživy ľudí
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
e-mail: jana.kopcekova@gmail.com

**Účinok skrmovania fermentovaného krmiva na priebeh
postmortálnych zmien v mäse brojlerových kurčiat**
*Effect of the feeding fermented feed on the course of the post mortem
process in meat of broiler chicken*

**Koréneková, B.¹, Petriková, D.¹, Mačanga, J.¹, Marcinčák, S.¹, Bartkovský, M.,¹
Klempová, T.²**

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach,
Katedra hygieny a technológie potravín¹, Ústav biotechnológie FCHTP, STU
v Bratislave²

Súhrn

Práca sa zaoberá vplyvom aplikácie fermentovaného krmiva na kurčatá plemena ROSS 308 a priebeh postmortálnych zmien. Krmivo bolo upravené fermentáciou pšeničných otrúb pomocou huby *Umbelopsis isabellina* CCF2412. Kontrolná skupina (50 kusov) bola kŕmená krmivom BR1 do 20. dňa, BR2 do 30. dňa a BR3 do 39. dňa. Pokusná skupina (50 kusov) bola navyše od 11. dňa kŕmená 10 % fermentovaným krmivom. Po usmrtení kurčiat na 39. deň bolo odobratých 10 kusov kurčiat z každej skupiny. Vzorky prsnej a stehennej svaloviny boli uskladnené pri 4 °C a na 1., 5., 7. deň analyzované na kyselinu mliečnu, fosfáty a hodnoty pH. Signifikantne vyššie hladiny kyseliny mliečnej boli v pokusnej skupine vo svalovine prsnej na 5. 7. deň a v stehennej svalovine na 7. deň pokusu oproti kontrolnej skupine. Signifikantne nižšie hodnoty pH boli zistené v pokusnej skupine v prsnej svalovine na 1., 5. a 7. deň a v stehennej svalovine na 1. 7. deň pokusu oproti kontrolnej skupine. Fermentované krmivo malo pozitívny účinok na uvedené parametre v mäse hydiny.

Kľúčové slová: *fermentované krmivo, brojlerové kurčatá, mäso, post mortem*

Abstract

The work deals with the impact of the application fermented feed to broiler chicken breed ROSS 308 and the cause of post mortem changes. Feed was prepared by fermentation of wheat bran by fungi *Umbelopsis isabellina* CCF2412. Control group (50pc) was fed by feed BR1 to day 20 and BR2 to day 30 and BR3 to day 39. Experimental group (50pc) was fed in addition with 10 % fermented feed from day 11. Chicken were slaughtered on day 39 and 10 chickens were obtained from each group. Samples of breast and thigh muscle were stored at 4 °C and on day 1, 5, 7 were analysed on the lactic acid, phosphates and pH values. Significantly higher levels of lactic acid were in experimental group in breast muscle on day 5, 7 and in thigh muscle on day 7 of experiment compared to control group. Significantly lower values of pH were obtained in breast muscle on day 1, 5, 7 and thigh muscle on day 1, 7 of experiment compared to control group. Fermented feed had a positive effect on the parameters of poultry.

Keywords: *fermented feed, broiler chicken, meat, post mortem*

Úvod

Na produkciu hydínového mäsa sú čoraz viac vo svete využívané hybridy s vysokým genetickým potenciálom, ako napr. brojlerova hydina ROSS, 308 (Hristkíeva a kol., 2014). U hydiny je výživa účinným nástrojom na kontrolu vývoja svalov a kvality mäsa (Berri, 2015). Okrem komerčných kŕmnych zmesí, ktoré sa podávajú hydine v závislosti od veku, sa trendom stáva doplnok výživy o rôzne zložky, ktoré vplývajú na kvalitu mäsa hydiny. Jednou z možností doplnku výživy je bioprodukt, získaný zo pšeničných otrúb fermentáciou pomocou *Umbelopsis isabellina* CCF2412. Je to nižšia olejovitá a vláknitá huba produkujúca polynenasýtené mastné kyseliny, napr. kyselinu gama-linolenovú a betakarotén (Klempová, 2013). Tento činiteľ môže ovplyvniť chemické zloženie mäsa, ale aj metabolizmus svaloviny *post mortem*. Cieľom práce bolo zistiť účinok skrmovania fermentovaného krmiva na hladiny kyseliny mliečnej, fosfátov a hodnoty pH mäsa v priebehu postmortálnych zmien mäsa brojlerových kurčiat.

Materiál a metodika

Jednodňové kurčatá, mäsový hybrid, ROSS 308 v množstve 100 kusov pochádzali od dodávateľa Mach Hydina Budmerice s.r.o. Chované boli na hlbokej podstielke v priestoroch na UVLF v Košiciach. Kontrolnej skupine bola podávaná kŕmna zmes (Tajba, a. s. Čaňa, SR) BR1 do 20. dňa veku, BR2 do 30. dňa a BR3 do konca výkrmu. Pokusná skupina dostávala rovnaké krmivo, ale od 11. dňa výkrmu bolo pridané aj 10 % biokrmivo pripravené fermentáciou pšeničných otrúb, pomocou nižšej vláknitej huby *Umbelopsis isabellina* CCF2412. Prístup kurčiat k vode a krmivu bol *ad libitum*. Kurčatá boli usmrtené na 39. deň pokusu. Vybratých bolo 10 ks kurčiat z kontrolnej a z pokusnej skupiny. Odobraté boli vzorky prsnej a stehennej svaloviny, ktoré boli uskladnené v chladničke pri 4 °C. Hladiny kyseliny mliečnej, fosfátov a pH hodnoty mäsa boli stanovené 24 h po porážke (1. deň pokusu) a na 5. a 7. deň pokusu. Kyselina mliečna a fosfáty sa analyzovali použitím Elektroforetického analyzátora EA 102 (Villa Labeco s.r.o., SR) s vodivostným detektorom. Vyhodnotené boli programom ITP Pro 32. Výsledky sú udávané v g/100g vzorky. Ako vodiaci elektrolyt bol použitý: 10 mmol HCl + β-alanín + 0,1% m-HEC a zakončujúceho elektrolyt: 5 mmol kyselina kaprónová + 5 mmol TRIS. Na stanovenie pH vo vodnom extrakte mäsa sa použil pH-meter (InoLab WTW 720). Štatistická analýza bola vykonaná v programe Microsoft Excel, 2013 a vyhodnotená Studentovým *t*-testom na hladinách významnosti $p \leq 0,001$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,05$.

Výsledky a diskusia

Pri hodnotení dynamiky v prsnej svalovine kontrolnej skupiny bol evidovaný signifikantný pokles kyseliny mliečnej na 5. ($p \leq 0,05$) a 7. deň ($p \leq 0,001$) pokusu oproti 1. dňu. V pokusnej skupine bol na 5. deň zistený signifikantný vzostup kyseliny mliečnej ($p \leq 0,05$) v porovnaní s 1. dňom. V stehennej svalovine kontrolnej skupiny bol zistený nárast kyseliny mliečnej na 5. deň, kým u pokusnej skupiny bol nárast na 5. deň ($p \leq 0,01$) a 7. deň ($p \leq 0,01$) Tab. č. 1.

V prsnej svalovine pokusnej skupiny bola hladina kyseliny mliečnej vyššia než v kontrolnej skupine na 5. a 7. deň ($p \leq 0,01$) pokusu, kým v stehennej svalovine na 7. deň pokusu ($p \leq 0,05$). Skladovacia teplota sa považuje za najdôležitejší faktor, ktorý ovplyvňuje kazenie mäsa tým, že ovplyvňuje trvanie lag fázy a špecifickú rýchlosť rastu mikroorganizmov (Doulgeraki a kol., 2012). Je nevyhnutné skladovať mäso pri teplote nižšej ako 4 °C hneď po porážke ako aj počas prepravy a skladovania (Dave and Ghaly,

2011). Nami aplikovaná teplota skladovania mäsa bola v zhode s uvedenými literárnymi faktami.

Tabuľka 3: Koncentrácia kyseliny mliečnej, fosfátov a pH hodnôt v svalovine kurčiat

Parameter	Skupiny	Svalovina	1. deň	5. deň	7. deň
Kyselina mliečna	Kontrola	Prsná	1,856±0,193	1,628±0,214*	1,214±0,138***
		Stehenná	0,965±0,134	1,069±0,182	1,020±0,176
Kyselina mliečna	Fermentované krmivo	Prsná	1,551±0,138 ⁺⁺	1,917±0,353 ^{*++}	1,468±0,150 ⁺⁺
		Stehenná	0,943±0,118	0,995±0,047**	1,235±0,185 ^{**+}
Fosfáty	Kontrola	Prsná	0,826±0,186	0,910±0,076	1,070±0,170**
		Stehenná	0,593±0,058	0,748±0,112**	0,881±0,102***
Fosfáty	Fermentované krmivo	Prsná	0,953±0,084 ⁺	0,825±0,031 ^{**+}	0,923±0,130
		Stehenná	0,645±0,107	0,664±0,036	1,054±0,172 ^{***+}
pH	Kontrola	Prsná	5,970±0,062	5,900±0,068*	5,951±0,049
		Stehenná	6,135±0,076	6,060±0,092	6,212±0,177
pH	Fermentované krmivo	Prsná	5,79±0,07 ⁺⁺⁺	5,78±0,03 ⁺⁺	5,83±0,04 ⁺⁺⁺
		Stehenná	6,04±0,08 ⁺	6,12±0,07	6,19±0,06 ^{***}

Signifikantné zmeny medzi dňami pokusu v rámci jednej skupiny na hladine: * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$

Signifikantné zmeny medzi kontrolnou a pokusnou skupinou na hladine: + $p \leq 0.05$; ++ $p \leq 0.01$; +++ $p \leq 0.001$

Pri hodnotení dynamiky fosfátov v prsnej svalovine kontrolnej skupiny bol pozorovaný ich nárast, kým v pokusnej skupine mierny pokles. V stehennej svalovine kontrolnej skupiny bol zistený signifikantný nárast fosfátov na 5. deň ($p \leq 0,01$) a 7. deň ($p \leq 0,001$) oproti 1. dňu. U pokusnej skupiny bol nárast fosfátov na 5. deň a 7. deň ($p \leq 0,001$) v porovnaní s 1. dňom.

U pokusnej skupiny v prsnej svalovine boli na 5. deň ($p \leq 0,05$) a 7. deň nižšie hladiny fosfátov oproti kontrole, kým v stehennej svalovine boli na 7. deň vyššie hladiny fosfátov.

Hodnota pH bola v kontrolnej skupine znížená na 5. deň pokusu v prsnej ($p \leq 0,05$) a stehennej svalovine a zvýšená na 7. deň. Prídavok fermentovaného krmiva spôsobil zvýšenie hodnôt pH v prsnej a stehennej svalovine ($p \leq 0,001$) na 7. deň oproti 1. dňu pokusu.

Výsledky sú v súlade s prácou Haščíka a kol. (2010), kde výkrmové hybridy kurčiat mali 24h po zabití v prsnej svalovine nižšie hodnoty pH oproti stehennej svalovine. Vysvetlením pre zvýšený pokles hodnôt pH po usmrtení hydiny sú najmä voľné protóny a teplo, pochádzajúce z hydrolýzy ATP (Scheffler a kol., 2011). Porovnaním hodnôt kontrolnej a pokusnej skupiny bol zistený účinok fermentovaného krmiva na hodnoty pH svaloviny. Signifikantne nižšie hodnoty pH boli zistené v pokusnej než kontrolnej skupine v prsnej svalovine na 1. deň ($p \leq 0,001$), 5. deň ($p \leq 0,01$) a 7. deň ($p \leq 0,001$) pokusu a v stehennej svalovine na 1. deň ($p \leq 0,05$) a 7. deň pokusu. U hydínového mäsa je hodnota pH hlavným determinantom funkčných a senzorických vlastností, pretože ovplyvňuje farbu pred varením, stratu odkvapom počas skladovania. Mäso s vysokým pH je spojené s myodegeneratívnymi chybami (biele pruhy), v ktorých je ovplyvnená svalová integrita (Mudalal, 2015). Preto je hlavným cieľom výživy dosiahnuť regulovanie hodnôt pH, aby sa znížila vysoká variabilita kvality brojlerového mäsa (Petracci, 2013). V mäse hydiny sa glukóza v procese glykolýzy vplyvom anaeróbných postmortálnych podmienok rozkladá na glukózu-6-fosfát a postupným procesom na kyselinu mliečnu, čím sa zníži hodnota pH mäsa. Zároveň

sa pri glykolýze uvoľňuje energia vo forme ATP. Vysoké hodnoty pH mäsa naznačujú, že došlo k značnému vyčerpaniu glykogénu, napr. vplyvom stresu pred zabitím, čo obmedzuje pokles hodnôt pH (Aliani a kol., 2013). Postmortálne zmeny, kde dochádza k premene svaloviny na mäso menia niektoré jeho vlastnosti, ako sú chemické (kyselina mliečna, fosfáty) a fyzikálne (hodnoty pH). Majú dôležitú úlohu pri zvyšovaní ich prijateľnosti ako potraviny.

Záver

Prídavok fermentovaného krmiva vytvoreného pomocou vláknitej huby *Umbelopsis isabellina* CCF2412 vo výžive brojlerového plemena Ross 308 mal pozitívny vplyv na hladiny kyseliny mliečnej a následne na hodnoty pH a fosfátov v mäse kurčiat.

Literatúra

Aliani, M., Farmer, L., Kennedy, J., Moss, B., Gordon, A.: Post-slaughter changes in ATP metabolites, reducing and phosphorylated sugars in chicken meat, *Meat Sci.*, 94, 2013, 55-62.

Berri, C., Métayer, S., Lessire, M., Duval, E., Bouvarel, I., Tesseraud, S.: Managing poultry meat quality by nutrition. *World's Poultry Sci. Journal*, 71, 2015, 190 -194.

Dave, D, Ghaly, A.: Meat Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques, *American J. Agricul. Biolog. Sci.*, 6, 2011, 4, 486-510.

Doulgeraki, A., Ercolini, D., Villani, F., Nychas, G.: Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions, *Int. J. of Food Micr.*, 157, 2012, 130-141.

Haščík, P., Mihok, M., Kačániová, M., Čuboň, J., Bobko, M., Prívar, Š., Vavrišinová, K., Arpášová, H., Kunová, S.: Vplyv probiotického preparátu s multikmeňovým zložením na postmortálne zmeny v prsnej a stehennej svalovine kurčiat hybro, *Potrav.* 4, 2010, 43-150.

Hristakieva, P., Mincheva, N., Oblakova, M., Lalev, M., Ivanova, I.: Effect of genotype on production traits in broiler chickens, *Slov. J. Anim. Sci.*, 47, 2014, 19-24.

Klempová, T., Basil, E., Kubatová, A., Čertík, M.: Biosynthesis of gamma-linolenic acid and beta-carotene by *Zygomycetes* fungi. *Biotechn. J.*, 8, 2013, 794-800.

Mudalal, S., Lorenzi, M., Soglia, F., Cavani, C., Petracci, M. : Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat. *Animal* 9, 2015, 728-734.

Petracci, M., Mudalal, S., Bonfiglio, A., Cavani, C. : Occurrence of white striping under commercial conditions and its impact on breast meat quality in broiler chickens. *Poult. Sci.* 92, 2013, 1670-1675.

Scheffler, T.L., Park, S., Gerrard, D.E.: Lessons to learn about *post mortem* metabolism using the AMPKy3^{R200Q} mutation in the pig. *Meat Sci.*, 2011, 89, 244-250.

Pod'akovanie

Práca bola vykonaná vďaka finančnej podpore Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-14-0397.

Kontaktná adresa

MVDr. Beáta Koréneková, PhD., UVLF Košice, SR, Katedra hygieny a technológie potravín, Ústav hygieny a technológie mäsa, Komenského 73, 041 81 Košice, e-mail: Beata.Korenekova@uvlf.sk

Rezíduá kokcidiostatík v živočíšnych produktoch hydiny

Residues of coccidiostats in poultry products

Kožárová, I., Juščáková, D.

The University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice

Súhrn

Spotrebitelia môžu byť vystavení účinkom rezíduí kokcidiostatík po konzumácii hydínového mäsa a vajec. V záujme ochrany verejného zdravia legislatívny rámec Európskej únie (EÚ) ustanovuje monitorovacie programy na kontrolu prítomnosti rezíduí týchto látok u hydiny a živočíšnych produktoch hydiny. Táto práca prezentuje legislatívny rámec kontroly rezíduí, požiadavky na rozsah a frekvenciu odberu vzoriek u hydiny a vajec, počty vyšetrených vzoriek a výsledky kontrol rezíduí vrátane počtov nevyhovujúcich vzoriek a zistených nálezov predložené členskými štátmi EÚ Európskej komisii za rok 2016.

Abstract

Human consumers may be exposed to residues of coccidiostats through the consumption of poultry meat and eggs. In order to protect public health, the European Union (EU) legislative framework establishes monitoring programmes for the control of the presence of residues of these substances in poultry and poultry products. This paper presents the regulatory framework for the control of residues, sampling levels and frequencies defined for poultry and eggs, the number of samples tested, and the residue monitoring results, which includes the number of non-compliant samples and findings submitted by the EU Member States to the European Commission for the year 2016.

Keywords: *coccidiostats, residues, poultry, outcomes*

Introduction

Poultry is often affected by a parasitic disease called coccidiosis. Coccidiosis is caused by single-celled protozoan organisms belonging to the genus *Eimeria*. This infectious disease causes serious economic consequences in animal production when without adequate control measures. Therefore, coccidiostats (the drugs intended to kill or inhibit protozoa) are administered to the animals as feed additives (Kožárová *et al.*, 2011).

Coccidiostat feed additives are evaluated by the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) of the European Food Safety Authority (EFSA). After evaluation and authorisation by the EFSA, coccidiostats are included in feed for particular animal species (chickens reared for laying chickens for fattening, turkeys, pheasants, guinea fowl, quails, partridges, rabbits for breeding, and rabbits for fattening) with specific conditions which include maximum residue limits (MRLs) and post market monitoring according to Regulation (EC) No. 1831/2003 (Danaher *et al.*, 2016). All authorised coccidiostat feed additives are listed in the European Union Register of Feed Additives (https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/animal-feed-eu-reg-comm_register_feed_additives_1831-03.pdf).

The residues of coccidiostats may make the consumption of poultry products dangerous or harmful to human health. To protect the health of consumers, poultry products are subjected to mandatory monitoring and control for coccidiostat (preventive drugs)

and anticoccidial (therapeutic drugs) residues in accordance with the Council Directive 96/23/EC. Anticoccidials are effective in treating animals in the event of sporadic coccidiosis outbreaks, which may occur where: there is no coccidiostat in the feed, or in the case of development of resistance, or even where the use of a vaccine is ineffective (Commission of the European Communities, 2008). Coccidiostats and anticoccidials are listed in Annex 1 of this Directive as B2b subgroup of group B (other veterinary drugs) and the sampling rules are specified in Annex IV of the same Directive and in Commission Decision 97/747/EC.

The main poultry products covered in the monitoring are poultry meat and eggs. According to the Directives mentioned above, the minimum number of samples for each category of poultry (broiler chickens, spent hens, turkeys, and other poultry) must be one per 200 tonnes of annual production (deadweight) with a minimum of 100 samples for each group of substances if the annual production of the category of poultry considered is over 5,000 tonnes. Coccidiostats must be checked each year using a minimum of 30 % of the total number of samples.

The minimum number of hen egg samples to be taken each year must be at least equal to 1 per 1,000 tonnes of annual egg production with a minimum of 200 samples. The samples can be taken at the farm or packing centre level. The sample size is at least 12 eggs or more according to the analytical methods used. At least 30 % of samples must be collected from packing centres. The 70 % of the samples must be tested for at least one compound from B2b subgroup of Group B and 30 % of the samples must be allocated according to the situation in the individual Member State. The eggs from other species of poultry must be included in the sampling plan as additional samples.

The number of such samples is to be determined by each country according to the level of production and the problems identified.

The EU Member States are obliged to report their monitoring results for veterinary drug residues and other substances in live animals and animal products according to Council Directive 96/23/EC through the Sanco Residue web based application for monitoring plans and results (Andersen *et al.*, 2016). The results are submitted to EFSA. EFSA is obliged to prepare a report each calendar year on the results from the monitoring of veterinary medicinal product residues and other substances in live animals and animal products including coccidiostats and anticoccidials.

Coccidiostat residues in poultry products – targeted samples

The latest EFSA report summarises the monitoring data collected from Member States in 2016 (EFSA, 2018). In 2016, the production of poultry in relation to the number of individual chickens in the EU and the number of targeted samples collected for poultry were 12,239,495 and 64,501 respectively. In the case of eggs, the production of eggs in the EU and the number of targeted samples collected for eggs were 5,424,380 and 12,700 respectively. The number of poultry meat and egg samples analysed and the percentage of non-compliant samples for coccidiostats residues are as follows:

- Poultry meat: In the 2016 monitoring, 8,223 targeted poultry samples were analysed for coccidiostats and anticoccidials of which 10 (0.12 %) were non-compliant. Regarding the number of non-compliant poultry meat samples, all 10 samples were non-compliant only for coccidiostats (1 for lasalocid, 1 for maduramycin ammonium, 1 for monensin, 6 for salinomycin, and 1 for robenidin).

- Eggs: In the 2016 monitoring, 3,933 targeted egg samples were analysed for coccidiostats and anticoccidials of which 32 (0.81 %) were non-compliant. Regarding the number of non-compliant egg samples, 28 samples were non-compliant for coccidiostats (6 for lasalocid, 8 for narasin, 8 for salinomycin, 1 for monensin, 4 for diclazuril, and 1 for robenidin) and 4 samples were non-compliant for anticoccidials (1 for dinitrocarbanilide, 1 for toltrazuril, and 2 for toltrazurilsulfon).

Coccidiostat residues in poultry products – suspect, import and other samples

In addition to the targeted sample, Member States also reported results on samples collected through sampling strategies which were deemed as suspect samples. These samples could be obtained from: part of a follow-up measure taken in case of infringements of MRLs when animals or animal products are placed on the market; or in the event of possession or presence of prohibited substances at any point during manufacture, storage, distribution or sale through the food and feed production chain; or in the case of suspicion or evidence of illegal treatment; or where there has been a non-compliance with the withdrawal period for an authorised medicinal veterinary product; or at import control; or in the framework of other monitoring programmes developed under the national legislation. Regarding the suspect samples, 2 egg samples were suspected of which 1 sample was non-compliant for the coccidiostat monensin. Regarding the import and other samples, no poultry and egg samples were non-compliant for coccidiostats residues.

Multi-year comparison

The percentage of non-compliant samples reported in relation to the total number of targeted samples analysed for coccidiostats and anticoccidials from 2007–2011 had the highest proportion of non-compliant samples (0.26 % – 1.6 %). In 2012–2013, the percentage of non-compliant samples was lower compared to previous years (0.15 % and 0.16 %, respectively) and in 2014–2016, slight increases compared to the previous 2 years were noted (0.19 % - 0.20 %). Since 2009, a decrease in the number of non-compliant samples has been recorded for this group with the most notable effect present in poultry. Here, the frequency of non-compliant samples dropped from 2.05 % in 2009 to 0.12 % in 2016, with this 2016 level being the lowest level recorded so far. This development is most likely the result of the awareness raised by and the measures taken after Commission Directive 2009/8/EC laying down maximum levels of unavoidable carry-over of coccidiostats in non-target feed entered into force.

Conclusions

Coccidiostats represent a group of substances targeted in residue control programmes according to the Directive 96/23/EC. There are no reliable alternatives to the use of coccidiostats as feed additives in the coccidiosis prevention in poultry and other sensitive species yet; and non-target feeds cross-contamination with these coccidiostat substances is an undesirable phenomenon. As such, based on the outcomes of the checks submitted by the Member States to the European Commission, the control of the presence of coccidiostats residues in poultry and poultry products is crucial to ensure public health and consumer protection.

References

- Andersen, J. H., Jensen, L. G. H., Madsen, H. L., Stoicescu, A-V. Sample-based reporting of official national control of veterinary drug residues. Abstract from EuroResidue VIII, Egmond aan Zee, Egmond aan Zee, Netherlands, 2016, 5 pp.
- Commission Decision 97/747/EC of 27 October 1997 fixing the levels and frequencies of sampling provided for by Council Directive 96/23/EC for the monitoring of certain substances and residues thereof in certain animal products. In: Official Journal of the European Communities L 303, 1997, p. 12–15.
- Commission Directive 2009/8/EC of 10 February 2009 amending Annex I to Directive 202/32/EC of the European Parliament and of the Council as regards maximum levels of unavoidable carry-over of coccidiostats or histomonostats in non-target feed. In: Official Journal of the European Union L 40, 2009, p. 19–25.
- Commission of the European Communities. Report from the Commission to the Council and the European Parliament on the use of coccidiostats and histomonostats as feed additives submitted pursuant to article 11 of regulation (EC) no 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. COM(2008)233 final., 5. 5. 2008, 16 pp.
- Council Directive 96/23/EC on measures to monitor certain substances and residues thereof in live animals and animal products and repealing Directives 85/358/EEC and 86/469/EEC and Decisions 89/187/EEC and 91/664/EEC. In: Official Journal of the European Union L 125, 1996, p. 10–32.
- Danaher, M., Shanahan, C., Butler, F., Evans, R., O’Sullivan, D., Glynn, D., Camon, T., Lawlor, P., O’Keeffe, M. Risk based approach to developing a national residue sampling plan for testing under European Union regulation for veterinary medicinal products and coccidiostat feed additives in domestic animal production. In: Food Additives and Contaminants, Part A, 33, 2016, p. 1155-1165.
- European Food Safety Authority (EFSA). Report for 2016 on the results from the monitoring of veterinary medicinal product residues and other substances in live animals and animal products. EFSA supporting publication 2018:EN-1358, 75 pp. doi:10.2903/sp.efsa.2018.EN1358
- Kožárová, I., Mačanga, J., Goldová, M., Major, P., Tkáčiková, S. Detection of maduramycin residues in the tissues of chickens and pheasants by the screening test for antibiotic residues (STAR). In: Food Additives and Contaminants, Part A, 2011, 28, p. 608-618.
- Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. In: Official Journal of the European Union L 268, 2003, p. 29–43.
- The European Union Register of Feed Additives. Available at: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/animal-feed-eu-reg-comm_register_feed_additives_1831-03.pdf

Acknowledgement

The study was supported by the project VEGA MŠVVaŠ SR and SAV No. 1/0576/17.

Contact address

Assoc. prof. Ivona Kožárová, DVM, PhD., UVMP in Košice, Department of Food Hygiene and Technology, Institute of Meat Hygiene and Technology, Komenského 73, 041 81 Košice, e-mail: ivona.kozarova@uvlf.sk

Hodnocení trestných činů § 156 a § 157 v ČR za období 2000-2017

Evaluation of criminal acts § 156 and 157 in the Czech Republic for the period 2000-2017

Král, T.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Trestné činy z oblasti potravin jsou definovány v zákoně č. 40/2009 Sb. trestní zákoník v § 156 a § 157. V námi sledovaném období v letech 2000-2017 bylo zaznamenáno celkem 240 trestných činů ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty a ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty z nedbalosti, z nichž bylo 147 objasněno. Celkové škody se ve sledovaném období u výše uvedených trestných činů vyšplhaly na 180 000 Kč. V rámci objasněných trestných činů a námi sledovaných osob (osoby do 18 let, osoby pod vlivem alkoholu a recidivisté) bylo pozorováno porušení pouze u recidivistů ze 17 % z celkových objasněných případů. V posledních letech byl zaznamenán nárůst a záchyt sledovaných trestných činů, přičemž v námi sledované populaci tyto trestné činy byly páčány recidivisty.

Abstract

Food crimes are defined in Act No. 40/2009 Coll. the Criminal Code in Sections 156 and 157. During the reporting period 2000-2017, a total of 240 crimes of health threatened by harmful foodstuffs and other objects and of health threatening defective foods and other negligence items were recorded, 147 of which were clarified. The total loss for the period by the aforementioned crimes rose to 180 000 CZK. In the context of crimes cleared and we watched people (persons under 18 years, persons under the influence of alcohol and repeat offenders) was observed violations rekodivů only 17% of the total cases cleared. In recent years, there has been an increase and seizure of the offenses monitored, with the number of crimes committed in our population by recidivists.

Klíčová slova: *trestný čin, závadné potraviny, recidivisté*

Úvod

V České republice každoročně můžeme pozorovat porušování trestního zákoníku v oblasti nakládání s potravinami. Námi sledované trestné činy jsou ukotveny v zákonu č. 40/2009 Sb., trestní zákoník v § 156 ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty a § 157 ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty z nedbalosti. Celkový počet těchto trestných činů byl za sledované období 2000-2017 v počtu 240 případů.

Příspěvek je zaměřen na hodnocení trestných činů ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty a ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty z nedbalosti uvedené v zákoně č. 40/2009 Sb. (§156 a § 157). V práci byly vyhledány právní předpisy týkající se problematiky trestných činů ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty a ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty z nedbalosti.

Trestného činu ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty § 156 se dopustí ten, kdo v rozporu s jiným právním předpisem má na prodej nebo pro tento účel

vyrobí anebo sobě nebo jinému opatří úmyslně potraviny nebo jiné předměty, jejichž požití nebo užití k obvyklému účelu je nebezpečné lidskému zdraví, bude potrestán odnětím svobody až na dvě léta, zákazem činnosti nebo propadnutím věci. Osoba, která spáchá čin uvedený výše jako člen organizované skupiny, spáchá takový čin za stavu ohrožení státu nebo za válečného stavu, za živelní pohromy nebo jiné události vážně ohrožující život nebo zdraví lidí, veřejný pořádek nebo majetek, poruší takovým činem důležitou povinnost vyplývající z jeho zaměstnání, povolání, postavení nebo funkce nebo uloženou mu podle zákona, nebo způsobí takovým činem těžkou újmu na zdraví, může být potrestána odnětím svobody na dvě léta až osm let. Pokud pachatel takovým to činem spáchá těžkou újmu na zdraví nejméně u dvou osob nebo smrt, může být potrestán odnětím svobody na tři léta až deset let. Pokud pachatel způsobí tímto jednáním smrt nejméně dvou osob, může dostat trest odnětí svobody v rozmezí pět až dvanáct let. Příprava takového to trestného činu je trestná.

Trestný čin § 157 ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty z nedbalosti se dopustí ten, kdo v rozporu s jiným právním předpisem má na prodej nebo pro tento účel vyrobí anebo sobě nebo jinému opatří z nedbalosti potraviny nebo jiné předměty, jejichž požití nebo užití k obvyklému účelu je nebezpečné lidskému zdraví, bude potrestán odnětím svobody až na šest měsíců, zákazem činnosti nebo propadnutím věci. Odnětím svobody až na dvě léta bude pachatel potrestán, jestliže spáchá čin uvedený výše za stavu ohrožení státu nebo za válečného stavu, za živelní pohromy nebo jiné události vážně ohrožující život nebo zdraví lidí, veřejný pořádek nebo majetek, nebo poruší takovým činem důležitou povinnost vyplývající z jeho zaměstnání, povolání, postavení, funkce, uloženou mu podle zákona, nebo způsobí takovým činem těžkou újmu na zdraví. Odnětí svobody na jeden rok až pět let bude potrestán pachatel, který způsobí činem uvedeným výše smrt nebo poruší-li takovým činem důležitou povinnost vyplývající z jeho zaměstnání, povolání, postavení nebo funkce nebo uloženou mu podle zákona a svým činem způsobí těžkou újmu na zdraví. Odnětí svobody na dvě léta až osm let bude pachatel potrestán, spáchá-li svým jednáním smrt, protože hrubě porušil hygienické nebo jiné zákony týkající se takových potravin nebo předmětů. Odnětím svobody na tři léta až deset let bude potrestán ten, kdo v rozporu s jiným právním předpisem má na prodej nebo pro tento účel vyrobí anebo sobě nebo jinému opatří z nedbalosti potraviny nebo jiné předměty, jejichž požití nebo užití k obvyklému účelu je nebezpečné lidskému zdraví a způsobí smrt nejméně dvou osob.

Definici bezpečné potraviny nalezneme v nařízení EP a Rady 178/2002, kde se udávají požadavky na bezpečnou potravinu. Nikdo nesmí uvést na trh potravinu, která není bezpečná. Potravina se nepovažuje za bezpečnou, jestliže je považována za škodlivou pro zdraví nebo není vhodná pro lidskou spotřebu.

Dle zákona č. 40/2009 Sb. (trestní zákoník) je ten, kdo naplní skutkovou podstatu trestného činu. Skutkovou podstatu trestného činu však může naplnit i osoba, která ještě trestní odpovědnost nemá. Trestní odpovědnost je v dovršených 15 letech věku. Osoby, které nedovršily 18 let věku, se dělí do dvou skupin na mladiství a děti. Mladistvý jsou osoby od 15 do 18 let věku. Dítě je pak osoba, která nedovršila ještě 15 let věku. Pokud se dopustí trestného činu mladistvý, je to označeno za provinění a prohrěšek se řeší u soudu pro mládež a postupuje se podle zákona č. 218/2003 Sb., o odpovědnosti mládeže za protiprávní činy a o soudnictví ve věcech mládeže a o změně některých zákonů (zákon o soudnictví ve věcech mládeže).

Materiál a metodika

Data použitá v příspěvku byla čerpána z policejní statistiky za léta 2000-2017. Tyto data jsou veřejně dostupná na stránkách (<http://www.policie.cz>) a data jsou zpracovávána a vydávána každý měsíc. Data byla sledována v rozmezí let 2000-2017 a jsou dělena na počet spáchaných trestných činů, počet objasněných případů a na škody tímto jednáním způsobené v tis. Kč., dále byla data rozdělena dle osob na osoby do 18 let věku, osoby pod vlivem alkoholu a recidivisté.

Výsledky a diskuse

V tabulce č. 1 můžeme vidět počty zaznamenaných trestných činů, objasněných činů a také výše vzniklých škod.

Tabulka 1: Počet případů, objasněných případů a škod za trestný čin ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty a ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty z nedbalosti za období 2000-2017 (Data převzata z www.policie.cz)

Roky	POČET	POČET objasněný ch případů	tj. v % (objasněn ost)	Škoda celkem v tisících Kč
2000	1	1	100.0	0
2001	0	0	0.0	0
2002	5	4	80.0	0
2003	4	2	50.0	3
2004	2	2	100.0	0
2005	4	4	100.0	0
2006	1	0	0.0	0
2007	6	5	83.3	0
2008	3	0	0.0	0
2009	2	1	50.0	0
2010	2	1	50.0	0
2011	1	1	100.0	0
2012	78	50	64.1	0
2013	67	26	38.8	0
2014	37	35	94.6	98
2015	11	5	45.5	29
2016	12	7	58.3	50
2017	4	3	75.0	0
Celkem	240	147		180
Průměr	13	8	59,7	10

Celkový počet trestných činů ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty a ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty z nedbalosti činil 240 za námi sledované období 2000-2017. Nejvyšší zaznamenané množství trestných činů bylo pozorováno v roce 2012, kdy bylo spácháno 78 trestných činů. Průměrná hodnota činí 13 trestných činů. Celkový počet objasněných trestných činů je

147, což dělá 61,3 %. Nejvyšší úspěšnost objasněných případů byla pozorována v roce 2000, 2004, 2005 a 2011, kdy se objasněnost vyšplhala až na 100 %. Průměrná hodnota objasněných trestných činů je 13 případů.

Škody způsobené v rámci trestných činů ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty a ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty z nedbalosti byly za sledované období celkem 180 000 Kč. Nejvyšší zaznamenaná škoda byla sledována v roce 2014, kdy se škoda vyšplhala na 98 000 Kč. Průměrná hodnota škod činila 10 000 Kč.

Dle tabulky č. 1 je vidět zvyšující se charakter trestných činů. Objasněnost trestných činů až na určité výjimky je podobná. V posledních letech také můžeme pozorovat vzrůstající tendenci škod způsobených trestnými činy ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty a ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty z nedbalosti.

Tabulka 2. Počet osob do 17 let, osob pod vlivem alkoholu a recidivistů, kteří spáchali trestné činy ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty a ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty z nedbalosti za období 2000-2017 (Data převzata z www.policie.cz).

Roky	POČET objasněných případů	Spácháno osobami do 17let	Spácháno osobami do 17let %	Spácháno pod vlivem alkoholu	Spácháno pod vlivem alkoholu %	Spácháno opak. trest. osobami	Spácháno opak. trest. Osobami %
2000	1	0	0	0	0	0	0.0
2001	0	0	0	0	0	0	0.0
2002	4	0	0	0	0	0	0.0
2003	2	0	0	0	0	0	0.0
2004	2	0	0	0	0	0	0.0
2005	4	0	0	0	0	1	25.0
2006	0	0	0	0	0	0	0.0
2007	5	0	0	0	0	1	20.0
2008	0	0	0	0	0	0	0.0
2009	1	0	0	0	0	0	0.0
2010	1	0	0	0	0	0	0.0
2011	1	0	0	0	0	0	0.0
2012	50	0	0	0	0	12	24.0
2013	26	0	0	0	0	3	11.5
2014	35	0	0	0	0	3	8.6
2015	5	0	0	0	0	1	20.0
2016	7	0	0	0	0	3	42.9
2017	3	0	0	0	0	1	33.3
Celkem	147	0	0	0	0	25	10.3
Průměr	8	0	0	0	0	1	10.3

Počet objasněných případů, trestné činy spáchané dětmi a mladistvými, osobami pod vlivem alkoholu a recidivisty za sledované období 2000-2017 nalezneme v tabulce 2.

Osoby, které nedovršily 18 let věku ve sledovaném období, nespáchaly žádný trestný čin ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty a ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty z nedbalosti. To samé platí u osob pod vlivem alkoholu, jelikož nebyl ve sledovaném období zaznamenán žádný trestný čin dle §156 a § 157.

Recidivisté spáchali celkem 25 trestných činů ve sledovaném období, což je 17 % ze všech objasněných případů. Nejvíce spáchaných trestných činů ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty a ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty z nedbalosti bylo pozorováno v roce 2012, kdy bylo spácháno 12 porušení § 156 a § 157, což činí 48 % ze všech trestných činů spáchaných recidivisty.

Závěr

Dozorová činnost v oblasti potravin je velice důležitá, jelikož jakékoliv škodlivé nebo nebezpečné potraviny mají potenciál ohrožovat lidské zdraví a proto je potřeba klást velký důraz na dodržování všech norem a právních předpisů týkající se potravin, snažit se co nejvíce objasňovat případy, kdy byl porušen zákon a zkvalitňovat právní předpisy a jejich vymáhání. Trestní jednání je uvedeno v zákoně č. 40/2009 Sb. trestního zákoníku v § 156 a § 157. Za námi sledované období došlo ke 240 trestným činům ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty a ohrožování zdraví závadnými potravinami a jinými předměty z nedbalosti a z toho bylo objasněno 147 případů, což je 61,3% objasněnost. Ze sledovaných hodnot bylo 17 % objasněných trestných činů spácháno recidivisty. V posledních letech docházelo ke zvýšenému zachytu námi sledovaných trestných činů. Do budoucna by bylo vhodné zvýšit objasněnost námi sledovaných trestných činů a vzhledem k tomu, že tento trestný čin lze spáchat i z nedbalosti tak zvyšovat povědomí producentů potravin, aby ubylo nových případů trestné aktivity.

Literatura

Česká Republika. Zákon č. 40/2009 Sb. ze dne 8. ledna 2009, trestní zákoník ve znění pozdějších předpisů. In: ASPI [právní informační systém]. Wolters Kluwer ČR [cit. 12. 6. 2018].

Česká Republika. Zákon č. 218/2003 Sb. ze dne 25. června 2003, zákon o odpovědnosti mládeže za protiprávní činy a o soudnictví ve věcech mládeže a o změně některých zákonů (zákon o soudnictví ve věcech mládeže) ve znění pozdějších předpisů. In: ASPI [právní informační systém]. Wolters Kluwer ČR [cit. 12. 6. 2018].

Policie ČR. 2000-2018. Statistika kriminality [Online]. [vid. 11. 6. 2018]. Dostupné z: <http://www.policie.cz/statistiky-kriminalita.aspx>

Evropská Unie. Nařízení EP a Rady 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. In: [www. eur-lex.europa.eu, 21. 8. 2018].

Kontaktní adresa

MVDr. Mgr. Tomáš Král, Ph.D.

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie

Ústav veřejného a soudního veterinárního lékařství, Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno

e-mail: Kralt@vfu.cz

Využití blízké infračervené spektrometrie pro stanovení kvality masných výrobků

Determination of meat products quality by near infrared spectroscopy

¹Králová, M., ¹Michalková, T., ²Saláková, A., ¹Vorlová, L.

¹Ústav hygieny a technologie mléka, ²Ústav hygieny a technologie masa, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Cílem práce bylo stanovení fyzikálně-chemických parametrů u masných výrobků (n = 30). Pomocí blízké infračervené spektrometrie s Fourierovou transformací (FT-NIR) byly vytvořeny kalibrační modely v modu reflektance v rozsahu spektra 10000 – 4000 cm⁻¹. Pro kalibraci byla použita metoda částečných nejmenších čtverců (PLS) a k ověření získaných výsledků metoda křížové validace. Mezi referenčními a predikovanými hodnotami nebyly pomocí párového t-testu nalezeny statisticky významné rozdíly (p < 0,05). Vysoce spolehlivé kalibrační a validační modely byly získány pro obsah celkových bílkovin, čistých svalových bílkovin, vody, sušiny a soli.

Abstract

The aim of this study was the determination of physico-chemical parameters of meat products (n = 30). The calibration models were created by near infrared reflectance spectrometry with Fourier transform (FT-NIR) in the reflectance mode from 10000 to 4000 cm⁻¹. The partial least squares (PLS) method was used for calibration and cross validation was applied to avoid overfitting. No statistically significant differences (p < 0.05) were found between the reference and predicted values. Very reliable calibration and validation models were obtained for the amount of total protein, non-collagen muscle protein, moisture, dry matter and salt.

Klíčová slova: *bílkoviny, tuk, sušina, voda, sůl, kolagen, masné výrobky, FT-NIR*

Úvod

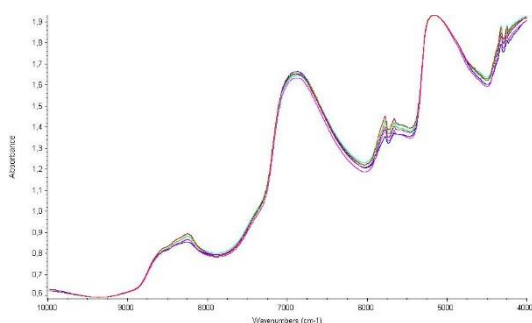
Masné výrobky hrají významnou roli ve výživě člověka vzhledem k jejich oblíbenosti. V současné době se v tržní síti vyskytuje velké množství těchto výrobků, u kterých si výrobci i spotřebitelé hlídají jejich kvalitu. Aby bylo možné deklarovat kvalitu, a složení výrobků na obalech, je důležité provádět analýzy surovin i konečných výrobků nejlépe přímo ve výrobním procesu (Michalková, 2017).

Cílem práce bylo vytvoření kalibračních modelů pro stanovení fyzikálně-chemických parametrů vybraných masných výrobků metodou FT-NIR spektrometrie.

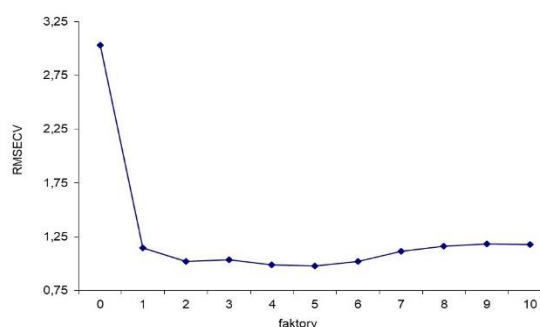
Materiál a metodika

Vzorky tepelně opracovaných masných výrobků (n = 30) byly výrobcem z České republiky označeny pro účely kalibrace FT-NIR jako „párkovina“. U výrobků byl stanoven: obsah celkových bílkovin (Kjeltec Systém 2300, Tecator, Švédsko), čistých svalových bílkovin (čisté bílkoviny – kolagen), kolagenu (spektrofotometricky), tuku (Soxtec, Tecator, Dánsko), sušiny (ČSN 576021, 1999), vody (100 – sušina) a soli (Mohrova metoda).

Vzorky byly homogenizovány pomletím a spektra proměřena na spektrometru NIR Nicolet Antaris (Thermo electron Corporation, USA) v kompresní kyvetě na integrační sféře, v režimu reflektance za podmínek: spektrální rozsah 10000 – 4000 cm^{-1} , spektrální rozlišení 8, 100 skenů (Králová et al., 2015). Ukázka spekter masných výrobků je na obrázku č. 1. Kalibrační a validační modely byly vytvořeny metodou částečných nejmenších čtverců (PLS – *Partial Least Squares*) v programu TQ Analyst verze 6.2.1.509 (Thermo Electron Corporation, USA). Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí párového t-testu v programu Microsoft Excel 2013.



Obrázek 1: ukázka spekter masných výrobků



Obrázek 2: PRESS pro stanovení sušiny

Výsledky a diskuze

Referenční hodnoty pro tvorbu kalibračních modelů jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1: Referenční hodnoty (n = 30) (%)

Parametry	x	s	medián	min	max
CB	13,91	2,19	12,97	11,02	18,54
ČSB	9,92	2,13	9,35	7,06	14,32
Kolagen	2,35	0,71	2,32	1,33	4,80
Tuk	20,64	3,87	19,88	14,57	30,16
Voda	60,70	3,39	61,16	53,58	66,83
Sušina	39,31	3,39	38,85	33,18	46,42
Sůl	2,13	0,32	2,09	1,05	2,67

x - průměr, *min* a *max* – minimální a maximální hodnota, *s* – směrodatná odchylka, CB – celkové bílkoviny, ČSB – čisté svalové bílkoviny

Odlehlé standardy, u kterých se objevila spektrální odchylka, nebo byly nepřesně stanoveny referenční hodnoty, byly odstraněny pomocí diagnostik *Spectrum Outlier* a *Leverage* (Nicolet CZ, 2011). Při tvorbě modelů byl odstraněn jeden odlehlý standard pro kolagen. U čistých svalových bílkovin, sušiny a soli byly vyřazeny dva odlehlé standardy a u parametrů celkové bílkoviny, tuk a voda po třech.

Důležité koncentrační a spektrální informace analyzované oblasti nebo oblastí kalibračních standardů jsou při kalibraci metodou PLS shlukovány do souboru nových proměnných, tzv. faktorů. Indikátorem chyby kalibrace jsou hodnoty PRESS (Králová et al., 2015). Údaje o použitých počtech faktorů jsou uvedeny v tabulce č. 2 a ideální PRESS je znázorněn pro sušinu na obrázku č. 2

Při tvorbě kalibračních modelů bylo využito matematické úpravy spekter první derivací pouze pro model stanovení sušiny, ostatní modely byly vytvořeny bez matematických úprav. Zjištěné kalibrační a validační výsledky uvádí tabulka č. 2. Mezi referenčními

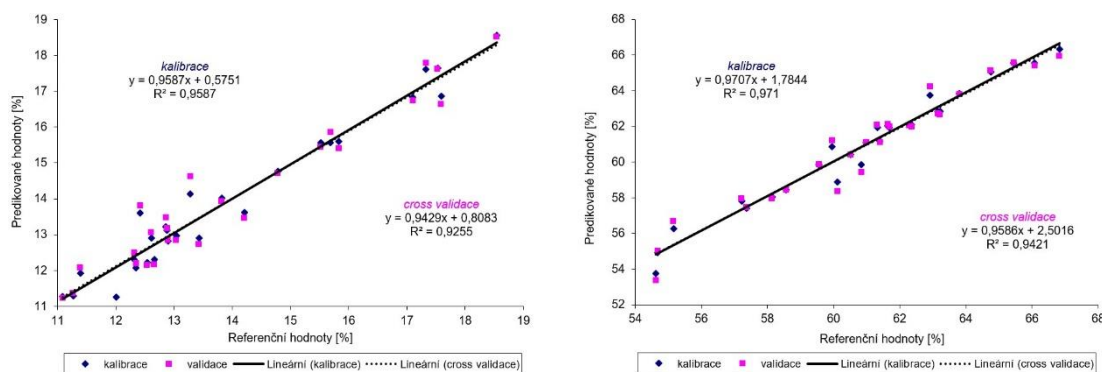
a predikovanými hodnotami nebyly pomocí párového t-testu nalezeny statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$).

Spolehlivost kalibračních modelů byla posouzena na základě kalibračních (CCV) a predikčních (PCV) variačních koeficientů. Procházková et al. (2011) uvádějí, že pokud CCV nepřesáhne 5 % a PCV 10 % jsou modely posouzeny jako vysoce spolehlivé. Pokud jeden z modelů přesahuje uváděnou hodnotu, jedná se model spolehlivý a jestliže jsou obě hodnoty překročeny, jsou modely posouzeny jako nespolehlivé. Dle těchto koeficientů byly vytvořeny vysoce spolehlivé modely pro celkovou bílkovinu, čistou svalovou bílkovinu, vodu, sušinu a sůl. Spolehlivý model byl nalezen pro tuk a nespolehlivý pro kolagen.

Tabulka 2: Kalibrační a validační výsledky

Parametry [%]	F	kalibrace				validace			
		R	R ²	SEC	CCV [%]	R	R ²	SECV	PCV [%]
CB	5	0,98	0,96	0,43	3,1	0,96	0,93	0,58	4,2
ČSB	10	0,99	0,99	0,26	2,6	0,95	0,91	0,62	6,2
Kolagen	7	0,90	0,81	0,24	10,4	0,75	0,56	0,37	16,4
Tuk	1	0,91	0,83	1,33	6,7	0,89	0,80	1,44	7,2
Voda	5	0,99	0,97	0,55	0,9	0,97	0,94	0,78	1,3
Sušina	2	0,96	0,92	0,85	2,2	0,94	0,88	1,02	2,6
Sůl	7	0,94	0,89	0,08	3,9	0,85	0,71	0,14	6,6

F – PLS faktory (PRESS), *R* – korelační koeficient, *R*² – koeficient determinace, *SEC* – směrodatná odchylka kalibrace, *SECV* – směrodatná odchylka validace, *CCV* – kalibrační variační koeficient, *PCV* – predikční variační koeficient, *CB* – celkové bílkoviny, *ČSB* – čisté svalové bílkoviny



Obrázky 3 a 4: Kalibrační a validační modely pro celkovou bílkovinu a vodu

Z pohledu NIR spektrometrie může být kvalita masa a masných výrobků chápána jako kvantitativní stanovení jednotlivých složek, nebo jako kvalitativní analýza (Michalková, 2017; Prieto et al., 2017). Problematikou stanovení vybraných fyzikálně-chemických parametrů masných výrobků pomocí moderní rychlé analytické metody FT-NIR spektrometrie se zabývali např. Procházková et al. (2010). Uvedení autoři získali vysoce spolehlivé kalibrační modely pro obsah sušiny, soli, čistých svalových bílkovin, ale i tuku a potvrdili tak vhodnost metody pro analýzu fyzikálně-chemických parametrů u salámů.

Gaitán-Jurado et al. (2008) uvádějí pro homogenizované vzorky u kalibrací koeficienty determinace R^2_{CAL} pro vodu 0,98 a bílkovinu 0,97. Obdobné výsledky byly získány i v naší studii.

Závěr

Pomocí metody částečných nejmenších čtverců (PLS) byly vytvořeny vysoce spolehlivé kalibrační a validační modely pro obsah celkových bílkovin, čistých svalových bílkovin, vody, sušiny a soli. Pro obsah tuku byl vytvořen model spolehlivý a pro obsah kolagenu model nespolehlivý. Korelační koeficienty kalibrace byly vyšší než 0,91 a korelační koeficienty validace vyšší než 0,85. Výjimku představoval kolagen, kde byly naměřeny hodnoty $R = 0,90$ pro kalibraci a $R = 0,75$ pro validaci. Metodu FT-NIR lze na základě zjištěných výsledků považovat ve většině případů za vhodnou pro stanovení vybraných fyzikálně-chemických parametrů masných výrobků.

Literatura

ČSN 576021. *Metody zkoušení výrobků z masa a sterilovaných pokrmů v konzervách – Stanovení obsahu vody (referenční metoda)*. Praha, Český normalizační institut, 1999, 8 p.

Gaitán-Jurado, A. J., Ortiz-Somovilla, V., España-España, F., Pérez-Aparicio, J., De Pedro-Sanz, E. J. Quantitative analysis of pork dry-cured sausages to quality control by NIR spectroscopy. *Meat Science*, 2008, vol. 78, p. 391-399.

Králová, M., Procházková, Z., Saláková, A., Kameník, J., Vorlová, L. Determination of meat quality by near-infrared spectroscopy. *Maso International*, 2015, vol. 5, p. 39-43.

Michalková, T. Stanovení vybraných parametrů masných výrobků s využitím FT-NIR spektrometrie. *Diplomová práce*, 2017, p. 63

Nicolet CZ. *Spektroskopický software TQ Analyst, stručný návod*. Praha, 2011, 112 s.

Procházková, Z., Dračková, M., Saláková, A., Gallas, L., Pospiech, M., Vorlová, L., Tremlová, B., Buchtová, H. Application of FT NIR spectroscopy in the determination of basic physical and chemical parameters of sausages. *Acta Veterinaria Brno*, 2010, vol. 79, p. S101-S106.

Prieto, N., Pawluczuk, O., Dugan, M. E. R., Aalhus, J. L. A review of the principles and applications of near-infrared spectroscopy to characterize meat, fat, and meat products. *Applied Spectroscopy*, 2017, vol. 71, p. 1403-1426.

Procházková, Z., Plátová, M., Dračková, M., Janštová, B., Pechová, A., Vorlová, L. Assessment of physical and chemical characteristics of goat's colostrum using FT-NIR spectrometry. *Potravinářstvo*, 2011, vol. 5, p. 392-395.

Poděkování

Práce vznikla za finanční podpory Institucionálního výzkumu FVHE VFU Brno. Poděkování patří také doc. MVDr. Josefu Kameníkovi CSc., MBA za pomoc při zprostředkování vzorků.

Kontaktní adresa

MVDr. Michaela Králová, Ph.D.

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie Ústav hygieny a technologie mléka,

Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno,

e-mail: kralovam@vfu.cz

Mikrobiální kontaminace hotových balených pokrmů prodávaných v tržní síti v rámci ČR

Microbial contamination of ready-packaged dishes sold in the Czech Republic

Křepelová, S., Dorotíková, K., Bogdanovičová, K., Kameník, J.

Ústav gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Práce se zabývá sledováním mikrobiologické kvality balených hotových pokrmů prodávaných v obchodních sítích na území České republiky. Celkem bylo vyšetřeno 50 vzorků, a to v den data spotřeby nebo max. tři dny po datu spotřeby. Analýza vzorků byla zaměřena zejména na sledování celkového počtu mikroorganismů a výskyt původců alimentárního onemocnění, a to potenciálně patogenních bakterií *Escherichia coli*, bakterií *Staphylococcus aureus* a *Bacillus cereus*, *Salmonella* spp. a *Listeria monocytogenes*. Průměrná hodnota mikrobiální kontaminace v analyzovaných vzorcích byla 6,8. 10⁷ KTJ/g vyšetřované suroviny. Přítomnost bakterie *Escherichia coli* byla detekována v 7 vzorcích (14 %), bakterie *Staphylococcus aureus* byla přítomna ve dvou vzorcích (4 %) a nejnižší záchyt byl prokázán u bakterie *Bacillus cereus*, a to pouze v jednom vyšetřovaném vzorku (2 %).

Klíčová slova: balené pokrmy, prodejní řetězce, celkový počet mikroorganismů, původci alimentárního onemocnění

Abstract

The study deals with the monitoring of a microbiological quality of packaged ready-to-eat dishes which were purchased in retail in the Czech Republic. In total 50 samples were tested on the best before day or maximum three days after expiration. The analysis was focused on monitoring the total number of microorganisms and presence of foodborne outbreaks mainly, namely the pathogenic bacteria *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. The average level of microbial contamination in the analyzed samples was 6.8 x 10⁷ KTJ/g. The presence of *Escherichia coli* was detected in 7 samples (14%), *Staphylococcus aureus* was present in two samples (4%) and the smallest occurrence represented *Bacillus cereus* in only one of tested sample (2%).

Keywords: packed dishes, retail chains, total viable counts, foodborne disease agents

Úvod

Z důvodu časového vytížení a měnícího se trendu ve stravování spotřebitelé čím dál tím častěji nakupují v obchodních řetězcích balené hotové pokrmy. Tyto pokrmy jsou určeny k přímé spotřebě a krátkodobý ohřev v mikrovlnné troubě nebo ve vodní lázni je vyžadován pouze z důvodu zvýšení chutnosti, a nikoliv k odstranění mikrobiologického rizika. Jsou to tedy komodity, které mohou pro spotřebitele představovat riziko alimentárních onemocnění. Provozovatelé potravinářských podniků musí dle Nařízení

o hygieně potravin (Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 852/2004) zajistit produkci zdravotně nezávadných potravin. V případě, že dojde k porušení těchto pravidel, například nedokonalým tepelným ošetřením či skladováním potravin v nevyhovujících podmínkách nebo sekundární kontaminací, může dojít k pomnožení mikrobiální kontaminace a uvedení pokrmu do stavu nebezpečného pro lidskou spotřebu. Na základě těchto skutečností jsme cíl práce zaměřili na mikrobiální situaci hotových balených pokrmů.

Materiál a metodika

V rámci naší práce docházelo k odebírání balených hotových pokrmů v tržní síti v ČR. Celkem bylo odebráno 24 vzorků balených hotových pokrmů pocházejících od tří výrobců. Pokrmy byly vyšetřovány jako celkové pokrmy a zároveň byla mikrobiologická situace sledována v jednotlivých komoditách pokrmů (např. 1 – svíčková s houskovým knedlíkem, 1A - maso, 1B - omáčka, 1C - knedlík). Celkem bylo tedy vyšetřeno 50 vzorků, které byly odebírány v období od dubna do srpna roku 2018. U jednotlivých vzorků docházelo k detekci celkového počtu mikroorganismů, ke sledování přítomnosti bakterií *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* a *Salmonella* spp.

Sledování celkového počtu mikroorganismů probíhalo dle ISO 4833.

Detekce *E. coli* byla prováděna dle ISO 16649 - 2, a to po pomnožení vzorku v pufrované peptonové vodě (Oxoid, VB) při 37 °C po dobu 24 hodin s následnou kultivací na TBX agaru (44 °C, 24 h). Z každého pozitivního vzorku byly do studie zařazeny 1 - 3 izoláty suspektních *E. coli*. Konfirmace suspektních izolátů spočívala v detekci oxidázy (OXItest, Erba - Lachema, ČR) a v posouzení tvorby indolu (COLItest, Erba - Lachema, ČR).

Pro stanovení *Bacillus cereus* bylo použito živné médium obsahující selektivní složku inhibující růst doprovodných mikroorganismů, MYP (Mannitol Yolk Polymyxine B agar). Stanovení probíhalo dle ISO 7932. Po pomnožení při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin následovala kultivace s použitím výše uvedeného média, při 30 °C po dobu 24 hodin. Identifikace izolátů byla provedena pomocí sledování úplné hemolýzy na krevním agaru.

Přítomnost bakterie *Staphylococcus aureus* byla prováděna podle ISO 6888 - 1. Po pomnožení při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin následovala kultivace s použitím média Baird - Parker (OXOID, UK). Identifikace izolátů byla provedena pomocí biochemického testu volné koagulázy.

Přítomnost bakterie *Listeria monocytogenes* byla stanovena podle ISO 11290 - 1, primárním pomnožením v polovičním Fraser médiu (OXOID, UK) při 30 °C po dobu 24 hodin s následným vyočkováním do plného Fraser média (OXOID, UK) při 37 °C po dobu 24 - 48 hodin. Vyočkování bylo provedeno na ALOA Agar (BioRad) a kultivace probíhala při 37 °C po dobu 24 - 48 hodin.

Salmonella spp. byla detekována podle ISO 6579. Po pomnožení v pufrované peptonové vodě (OXOID), proběhlo selektivní pomnožení v médiích RVS a MKTTN (OXOID, UK) při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. Poté následovalo vyočkování na média RAMBACH (MERCK, D) a XLD (OXOID, UK).

Výsledky

V rámci sledování mikrobiální kontaminace hotových balených pokrmů byly vzorky vyšetřovány v poslední den nebo max. tři dny po datu spotřeby. Průměrná hodnota

mikrobiální kontaminace na vyšetřovaný vzorek dosáhla $6,8 \cdot 10^7$ KTJ/g vyšetřovaného vzorku.

Escherichia coli byla detekována celkem v 7 vzorcích (14 %). Ve 2 případech byla detekována ve směsi hotového pokrmu a také byla stanovena v 5 konkrétních komoditách: houskový knedlík (2), kuřecí maso (1), opékané nudle (1), gyros s nudlemi (1) a směs se sýrem (1). Bakterie *E. coli* patří mezi indikátorové mikroorganismy a je sledována ve vybraných potravinách dle Nařízení Komise (ES) 2073/2005. Její výskyt v prostředí potravinářských provozoven se dává do souvislosti s nižší úrovní hygieny, hlavně hygieny osobní.

Bakterie *Bacillus cereus* byla detekována pouze jednou (2 %), a to v opékaných nudlích. *Bacillus cereus* se řadí mezi ubikvitární bakterie (Samapundo et al., 2011). Může se vyskytovat, jak v potravinách živočišného původu jako je mléko a mléčné výrobky, tak také v potravinách rostlinného původu, např. cereálie, nudle a rýže. Často je detekován právě v hotových pokrmech (Di Pinto et al., 2013).

Bakterie *Staphylococcus aureus* byla detekována ve dvou vzorcích (4 %), a to v přílohovém houskovém knedlíku a vepřovém mase. Bakterie *Staphylococcus aureus* produkuje za vhodných podmínek enterotoxiny, které mohou způsobit alimentární onemocnění. Otrava způsobená stafylokokovými enterotoxiny byla identifikována ve školní jídelně na Slovinsku roku 2010. Z 374 dětí onemocnělo 73, otrava byla způsobena konzumací sekaného masa a bramborového salátu (Košnik et al., 2013). Další popsaná stafylokoková otrava byla ve školní jídelně v Belgii (2013) a zde byla příčinou otravy konzumace bramborovo-mrkvové přesnídávky (Denayer et al., 2017).

Další námi vyšetřované bakterie nebyly v jednotlivých surovinách hotových balených pokrmů detekovány.

Celkově můžeme říci, že nejvíce kontaminovanou surovinu během námi prováděného vyšetření je přílohový houskový knedlík a nejrůznější typy omáček - svíčková, rajská apod. ($\varnothing = 1,5 \cdot 10^8$ KTJ/g). Zatímco nejméně kontaminovanou surovinu představovala čočka a různé druhy tepelně ošetřeného masa (průměrná hodnota $4,7 \cdot 10^1$ KTJ/g).

Tabulka 1: Mikrobiální kontaminace hotových pokrmů a jednotlivých komodit pokrmů

POKRM	detekce <i>E. coli</i> v hotovém pokrmu	detekce <i>E. coli</i> v jednotlivé komoditě	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	CPM/g
1. španělský vepřový ptáček, rýže	-		-	-	$>3,0 \cdot 10^7$
2. plněný paprikový lusk, rajská omáčka, knedlík	+	knedlík	-	-	$>3,0 \cdot 10^7$
3. hovězí svíčková na smetaně, knedlík	-	knedlík	-	-	$>3,0 \cdot 10^7$
4. čočka s uzenou kýtou a vejcem	-	-	-	-	$2 \cdot 10^4$
5. čevapčiči s bramborovou kaší	-	-	-	-	$2,7 \cdot 10^4$
6. vepřové kostky na paprice, těstoviny	-	-	-	-	$1,3 \cdot 10^8$
7. srbské vepřové rizoto	-	-	-	-	$2,7 \cdot 10^7$
8. škvarkové bramborové knedlíky, zeli	-	-	-	-	$2,2 \cdot 10^7$
9. vepřová kýta po selsku, zeli, knedlík	-	-	-	+ knedlík	$1,3 \cdot 10^8$
10. debrecínský guláš, knedlík	-	-	-	-	$2,7 \cdot 10^8$
11. segedínský guláš	-	-	-	+ maso	$9,2 \cdot 10^8$
12. kuřecí gyros s opékanými nudlemi	+	kuřecí maso opékané nudle	+ opékané nudle	-	$1,6 \cdot 10^7$
13. kovbojská pánev, bramboráčky	-	-	-	-	$2,8 \cdot 10^4$
14. špagety po milánsku	-	směs se sýrem	-	-	$>3,0 \cdot 10^7$

Vysvětlivky: CPM – celkový počet mikroorganismů, *E. coli* – *Escherichia coli*

Závěr

Bezpečné potraviny jsou základem pro ochranu lidského zdraví. Snaha produkovat zdravotně nezávadné potraviny či hotové pokrmy by měla být prioritou každé vyspělé společnosti. Proto zvyšování míry rizika z přítomnosti mikroorganismů v pokrmech si vynucuje důkladné zhodnocení jejich výskytu v zařízeních, která jsou z pohledu ohrožení obyvatel aktuálně nejzávažnější.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem IGA 233/2018//FVHE Veterinární a farmaceutické univerzity Brno.

Literatura

Denayer, S., L. Delbrassinne, Y. Nia. A N. Botteldoorn, 2017. Food-Borne Outbreak Investigation and Molecular Typing: High Diversity of *Staphylococcus aureus* Strains and Importance of Toxin Detection. *Toxins*. 9(12). DOI: 10.3390/toxins9120407.

Di Pinto, A., E. Bonerba, G. Bozzo, E. Ceci, V. Terio a G. Tantillo, 2013. Occurrence of potentially enterotoxigenic *Bacillus cereus* in infant milk powder. *European Food Research and Technology*, 237, s. 275–279.

ISO 16649-1, 2012. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli*. Part 1: Colony-count technique at 44 degrees C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide.

ISO 6888-1 (560089), 2000. Microbiology of food and animal feeding stuffs, Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. Praha

ISO 7932 (56 0092), 2005. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection of presumptive *Bacillus cereus*- Technique of calculating colonies cultivated at 30 ° C. Praha

ISO 6579 (560088), 2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs, Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Praha

ISO 10272-1 (560126), 2006. Microbiology of food and animal feeding stuffs, Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp., Part 1: Detection method. Praha

Košnik, I. G., A. K. Lah, U. Dermota a T. Frelj, 2013. Managing of the outbreak of staphylococcal food poisoning in primary school. *Zdrav Var*. 53, 168-178. DOI: 10.2478/sjph-2014-0017.

Samapundo, S., M. Heyndricks, R. Xhaferi a F. Devlieghere, 2011. Incidence, diversity and toxin gene characteristics of *Bacillus cereus* group strains isolated from food products marketed in Belgium. *International Journal of Food Microbiology*, s. 34-41.

Kontaktní adresa

Mgr. Ing. Simona Křepelová

VFU, FVHE Brno

Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno,

e-mail: simona.krepelova@seznam.cz, H17008@vfu.cz

Mikroskopická stavba semen podzemnice olejn  (Arachis hypogaea L.) *Microscopic structure of peanut seeds (Arachis hypogaea L.)*

Lu akov, L., Jav rkov, Z., Pospiech, M., Bartlov, M., B halov, H.,
Tremlová, B.

Veterinární a farmaceutick univerzita Brno

Souhrn

Podzemnice olejn je z pohledu alergenicity součástí řady nových studií. Výzkum v této oblasti má velké uplatnění od popisných studií semen podzemnice olejn až po jejích technologicky spracovan formy. Jednou z oblastí vzkumujou týká metody detekce, mezi které lze zařadit i metody histochemick. Histochemick analýza byla předmětem této práce, se zaměřením na studii struktury podzemnice olejn, jež je v potravinrskm prmyslu široce vyuzvna - od distribuce v nezpracovanm stavu až po její pouzt jako suroviny pro vrobu dalch potravin.

Abstract

The peanut is a part of a number of current studies in terms of allergenicity. Research in this area has a wide range. One of the investigated areas is detection methods, including histochemical methods. Histochemical analysis were also the subject of this research, which was focused on the structure of peanuts that is widely used in the food industry - from raw material distribution to its use as raw material for the production of other foods.

Klıčov slova: araid, histochemie, struktura, potravinov alergie

vod

Podzemnice olejn (*Arachis hypogaea* L.) je bobovit rostlina z botanického hlediska řazena mezi lutniny. Je semena, tk nazvan araidy, burky i bursk ořsky, jsou navzdory botanickmu řazen často bnm spotřebitelem chybn vnímány jako such skořpkov plody (ořechy) (Sheu et al., 2018). Největší podíl na produkci araid ve světě zaujímají zem jako je na, Indie a USA (Campos-Mondragón et al, 2009, Sheu et al., 2018). V celosvtovm měřítku je *Arachis hypogaea* řazena mezi nejvíce konzumovan luštěniny. Araidy jsou díky své vysok nutrin hodnot považovány za velmi dležitou komponentu lidsk výživy. Vynikjc nutrin potenciál je podzemnici olejn přisuzován zejména z dvodu přítomnosti biologicky aktivních látek, jako jsou tokoferoly, flavonoidy, fenolov kyseliny, fytosteroly, resveratrol, jako i vysok hladiny bílkovin a tuku. Podzemnice obsahuje více než 50 % tuku, z něhož přibližn 30 % zaujímá kyselina linolov a 45 % kyselina olejov. Bílkovin obsahuje přibližn 38 %, sacharidů okolo 2 %, vlákniny 4 % a 3 % minerálních látek (Na, K, Mg, Ca, Fe, P). Pravideln konzumace podzemnice olejn dle řady studií přispv ke snižování rizika kardiovaskulárních onemocnění, tkt je spojována se snienm rizika rozvoje diabetu 2. typu, rakoviny tlustého střeva, prostaty a prsu. Je j připisovn týká pozitivn uinek př boji s osteoporózou a nedostatkem přjmu bílkovin (Toomer, 2017, Sheu et al., 2018, Campos-Mondragón et al, 2009). Hlavn vyprodukovan podíl této plodiny je zpravidla zpracováván k přm spotřebě jako praen plody – arašidy, dále araidov máslo, či pro výrobu cukrovinek a müsli (Campos-Mondragón et al, 2009, Sheu et al., 2018). V poslednch letech je podzemnice olejn vyuzvna k výrobě potravinrskch zahuovadel, či proteinových izolt a dalch doplnk sportovn

výživy (Atasie et al., 2009). Konzumace podzemnice olejn \acute{e} navzdory v \acute{y} born \acute{y} m nutri \acute{c} n \acute{y} m p \acute{r} edpoklad \acute{u} m m \acute{u} že zp \acute{u} sobit i z \acute{a} v \acute{a} žn \acute{e} zdravotn \acute{i} komplikace. J \acute{a} dra podzemnice olejn \acute{e} maj \acute{i} i alergenn \acute{i} potenci \acute{a} l. Dle Na \acute{r} izen \acute{i} Evropsk \acute{e} ho parlamentu a Rady (EU) \acute{c} . 1169/2011 pat \acute{r} í j \acute{a} dra podzemnice olejn \acute{e} a v \acute{y} robky z nich mezi l \acute{a} tky nebo produkty vyvol \acute{a} vaj \acute{i} c \acute{i} alergie nebo nesn \acute{a} šenlivost a jejich obsah v potravin \acute{a} ch je povinn \acute{e} uv \acute{a} d \acute{e} t na obalu. Prevalence alergie na podzemnici olejnou se ve vysp \acute{e} l \acute{y} ch zem \acute{i} ch pohybuje mezi 0,6 % a 1,0 %. Již velmi mal \acute{e} množství podzemnicov \acute{e} ho proteinu m \acute{u} že vyvolat z \acute{a} v \acute{a} žn \acute{e} alergick \acute{e} reakce. P \acute{r} edpoklád \acute{a} n \acute{a} kvantitativn \acute{i} or \acute{a} ln \acute{i} prahov \acute{a} hodnota je na z \acute{a} kklad \acute{e} řady studi \acute{i} odhadov \acute{a} na p \acute{r} ibližn \acute{e} na 1,6 mg, p \acute{r} icemž minim \acute{a} ln \acute{i} d \acute{a} vka arašidov \acute{e} ho proteinu vyvol \acute{a} vaj \acute{i} c \acute{i} objektivn \acute{i} alergickou reakci se pohybuje kolem 0,14 mg pro d \acute{e} ti a 0,21 mg pro dosp \acute{e} l \acute{e} . Alergie na arašidy zpravidla p \acute{r} etrv \acute{a} v \acute{a} po cel \acute{y} ž \acute{i} vot a je p \acute{r} ic \acute{i} nou v \acute{e} tšiny sledovan \acute{y} ch potravinov \acute{y} ch anafylaktick \acute{y} ch reakc \acute{i} . Zp \acute{u} sob, jak zab \acute{r} anit alergii na arašidy, je p \acute{r} esn \acute{e} vylou \acute{c} en \acute{i} arašid \acute{u} ze stravy. Bohužel je nutn \acute{e} po \acute{c} ítat i s rizikem skryt \acute{y} ch alergen \acute{u} , kter \acute{e} jsou v potravin \acute{a} ch obsaženy ne \acute{u} mysln \acute{e} z d \acute{u} vodu k \acute{r} ížov \acute{e} kontaminace surovin \acute{c} i v \acute{y} robn \acute{i} ch za \acute{r} izen \acute{i} . Nezbytn \acute{y} mi strategiemi pro ochranu alergick \acute{y} ch spot \acute{r} ebitel \acute{u} ze strany v \acute{y} robc \acute{u} potravin je striktn \acute{i} zaveden \acute{i} pl \acute{a} nu řízen \acute{i} alergen \acute{u} v potravin \acute{a} řsk \acute{e} m podniku, prosazov \acute{a} n \acute{i} pravidel označov \acute{a} n \acute{i} a kontrola p \acute{r} islušn \acute{y} mi org \acute{a} ny (Montserrat et al., 2015, Comstock, 2016, Sheu et al., 2018).

C $\acute{i$ lem t \acute{e} to p \acute{r} ace byl mikroskopick \acute{y} popis struktury semen podzemnice olejn \acute{e} , na jehož z \acute{a} kklad \acute{e} je v potravin \acute{e} mozn \acute{e} diagnostikovat její \acute{c} ásti v potravinov \acute{e} matici.

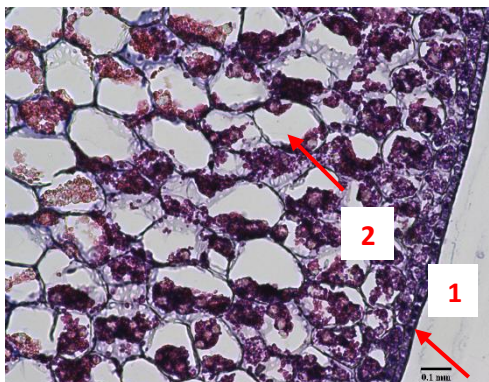
Materi \acute{a} l a metodika

V t \acute{e} to studii byly vyšetřov \acute{a} ny t \acute{r} i formy p \acute{r} ážen \acute{e} podzemnice olejn \acute{e} (*Arachis hypogaea* L.), a to cel \acute{y} plod, kr \acute{a} jen \acute{e} kousky a strouhan \acute{a} forma semen. Vzorky byly zpracov \acute{a} ny technikou parafinov \acute{y} ch bloků, p \acute{r} icemž pro každou formu byly vyhotoveny 4 bloky. Bloky byly kr $\acute{a$ jeny na mikrotomu Leica RM2255 (Leica, GER). Z každ \acute{e} ho bloku bylo zhotoveno 12 skel po 2 řezech o tloušťce 7 μ m. Pot \acute{e} byly vzorky barveny 3 r \acute{u} zn \acute{y} mi histolochemick \acute{y} mi barven \acute{i} mi – c $\acute{i$ len \acute{e} barven \acute{i} PAS Calleja – PC (Pospiech et al., 2011) a Lugol Calleja – LC (Pospiech et al., 2014) a p \acute{r} ehledn \acute{e} barven \acute{i} Hematoxylin Eosin – HE (Pospiech et al., 2011). N \acute{a} sledn \acute{e} byly vzorky montov \acute{a} ny pomoc \acute{i} montovac \acute{i} ho m \acute{e} dia SOLAKRYL a podrobeny mikroskopick \acute{e} mu sn \acute{i} m \acute{a} n \acute{i} pomoc \acute{i} mikroskopu Nikon H600L (Nikon, JAP). Bylo tak \acute{e} provedeno sn \acute{i} m \acute{a} n \acute{i} za využit \acute{i} polariza \acute{c} n \acute{i} ho filtru. Sn \acute{i} mky byly d $\acute{a$ le zpracov \acute{a} ny pomoc \acute{i} programu SW NIS Element verze 4.50 (Laboratory Element, CZE).

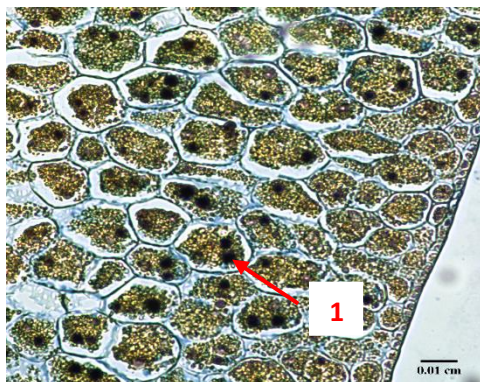
V \acute{y} sledky a diskuze

Z d \acute{u} vodu mozn \acute{e} ho zp \acute{u} soben \acute{i} alergick \acute{e} reakce je pot \acute{r} eba m \acute{i} t spolehliv \acute{e} metody detekce p \acute{r} ítomnosti arašid \acute{u} v potravin \acute{a} ch. N \acute{a} mi testovan \acute{e} histochemick \acute{e} metody jsou popisov \acute{a} ny jako metody vhodn \acute{e} pro jejich identifikaci. Všechna barven \acute{i} , obarvila odbornou literaturou popisovan \acute{e} struktury (Hohmann, 2007, Young and Schadel, 1990). P \acute{r} i použit \acute{i} barven \acute{i} HE (Obr \acute{a} zek 1) byly obarveny v \acute{e} šchny struktury v r \acute{u} zn \acute{y} ch odst $\acute{i$ nech od r \acute{u} žov \acute{e} po \acute{c} ervenou. Ze struktury zvyrazn \acute{e} n \acute{e} t $\acute{i$ mt \acute{o} barven \acute{i} m bylo patrn \acute{e} , že vn \acute{e} jš \acute{i} epidermis je tvořena jednou vrstvou bun \acute{e} k pokr \acute{y} vaj \acute{i} c \acute{i} ch povrch kotyledonu, tyto buňky maj \acute{i} obd \acute{e} ln \acute{i} kov \acute{i} t \acute{y} tvar. Vnit \acute{r} n \acute{i} epidermis je tvořena buňkami nepravideln \acute{e} ho tvaru a p \acute{r} ůduchy. C \acute{e} v \acute{n} i svazky proch \acute{a} z \acute{i} ob \acute{e} ma kotyledony a jsou složeny ze dvou vrstev. Hlavn \acute{i} \acute{c} ást pletiva je tvořena velk \acute{y} mi parenchymatick \acute{y} mi buňkami pravideln \acute{e} ho tvaru, tak jak ve sv \acute{e} studii popisuje Young and Schadel (1990). Bližš \acute{i} popis dalš \acute{i} ch bun \acute{e} čn \acute{y} ch struktur obsažen \acute{y} ch v parenchymu byl však na z \acute{a} kklad \acute{e}

přehledného barvení HE téměř nemožný. Proto bylo nutné využít pro rozlišení těchto struktur cílená barvení. Cílené barvení LC je vhodné pro zvýraznění přítomných škrobů, které parenchym obsahuje. Škrobová zrna byla zbarvena do hněda až černá (Obrázek 2). Škrobová zrna jsou 5 až 10 μm velká, kulatého tvaru a vyznačovala se slabým vrstvením a jemnou jadernou trhlinkou (Hohmann, 2007). Při použití polarizačního filtru na řezy obarvené HE (Obrázek 3) bylo vyzorováno ve shodě s tvrzením Young and Schadel (1990), že škrobová zrna otáčejí rovinu polarizovaného světla, a právě popisované centrálně uložené jádro s trhlinkou může být dalším poznávacím znakem semene podzemnice olejné.

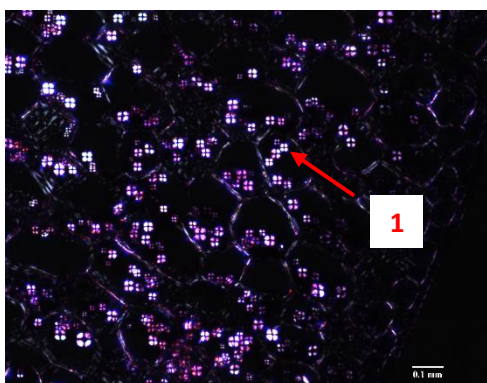


Obrázek 1: Podzemnice olejná, barvení HE, 1 - obdélníkové buňky vnější epidermis, 2 - parenchymatické buňky pravidelného tvaru

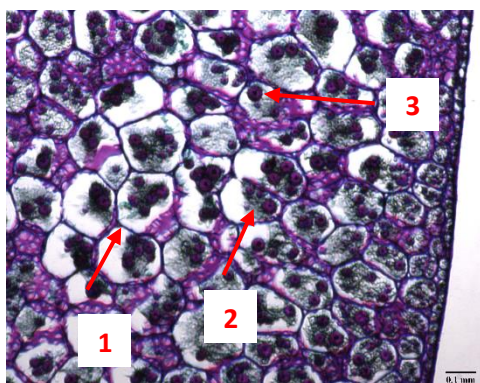


Obrázek 2: Podzemnice olejná, barvení LC, 1 - černě zbarvená škrobová zrna kulatého tvaru

Hlavní část kotyledonů je tvořena parenchymem obsahujícím tuk, aleuronová zrna a škrob. (Hohmann, 2007). Třetí zvolené barvení PAS Calleja bylo nejvhodnější pro zvýraznění přítomných bílkovin (Obrázek 4). Toto barvení nejen, že zbarvovalo polysacharidy a také škrobová zrna červenofialově, ale právě bílkoviny do odstínu tmavě zelenošedé. Podzemnice olejná použitá při studiu struktury byla podrobena technologickému zpracování - pražení. Vysoká teplota způsobila uvolňování proteinů od buněčných stěn a jejich shlukování kolem jádra buňky ve formě granul (Young and Schadel, 1990), jak je patrné na Obrázku 4. Ze získaných výsledků vyplývá, že nejvhodnějším barvením pro zvýraznění co nejvíce typických mikroskopických struktur podzemnice olejné, je barvení PC.



Obrázek 3: Podzemnice olejná, barvení HE, polarizace, 1 - centrálně uložená jádra škrobových zrn s jemnou jadernou trhlinkou



Obrázek 4: Podzemnice olejná, barvení PC, 1 - buněčná stěna parenchymatických buněk, 2 - proteinové granule kolem škrobových zrn, 3 - škrobová zrna

Závěr

Tato práce byla zaměřena na popis mikroskopické struktury podzemnice olejně. Znalost mikrostruktury je důležitá pro analýzu přítomnosti podzemnice ve výrobcích. Histologické řezy byly barveny pomocí třech typů barvení. Jako nejvhodnější barvení pro analýzu struktury semene podzemnice olejně se jeví barvení PAS Calleja. Za předpokladu nízkých koncentrací a při použití mletých forem podzemnice olejně lze předpokládat problémy při identifikaci morfologických struktur dostatečných pro přesnou identifikaci. V takovýchto případech je třeba doplnit vyšetření potravinových maticí o další metodu např. metodu imunohistochemickou.

Literatura

- Atasie, V. N.; Akinhanmi, T. F.; Ojiodu, C. C. Proximate analysis and physico-chemical properties of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Pakistan Journal of Nutrition*. 2009, vol. 8, no. 2, p. 194-197.
- Campos-Mondragón, M.G.; Calderón De La Barca, A.M.; Durán-Prado, A.; Campos-Reyes, L.C.; Oliart-Ros, R. M.; Ortega-García, J.; Medina-Juárez, L. A.; Angulo, O. Nutritional composition of new peanut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars. *GRASAS Y ACEITES*, 2009, vol. 60, no. 2, ABRIL-JUNIO, p. 161-167, ISSN: 0017-3495 DOI: 10.3989/gya.075008.
- Comstock, S.S.; Maleki, S.J.; Teuber, S.S. Boiling and frying peanuts decreases soluble peanut (*Arachis hypogaea*) allergens Ara h 1 and Ara h 2 but does not generate hypoallergenic peanuts. *PLoS one*. 2016, vol. 11, no. 6 : e0157849.
- Evropská Unie. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011, o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení směrnice Komise 87/250/EHS, směrnice Rady 90/496/EHS, směrnice Komise 1999/10/ES, směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/13/ES, směrnice Komise 2002/67/ES a 2008/5/ES a nařízení Komise (ES) č. 608/2004. In: Úřední věstník Evropské unie L 304, 22/11/2011, s. 18-63.
- Hohmann, B. Mikroskopische Untersuchung pflanzlicher Lebensmittel und Futtermittel: Der Gassner. Hamburg: B.Behr's Verlag GmbH & Co. KG, 2007. ISBN 987-389947-256-1.
- Montserrat, M.; Sanz, D.; Juan, T.; Herrero, A.; Sánchez, L.; Calvo, M.; Pérez, M. D. Detection of peanut (*Arachis hypogaea*) allergens in processed foods by immunoassay: Influence of selected target protein and ELISA format applied. *Food control*, 2015, vol. 54, p. 300-307.
- Pospiech, M., Petrášová, M., Tremlová, B., Randulová, Z. (2014). Detection of native starches in meat products using histochemical Lugol Calleja method. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 8, no. 1, p. 77-81.
- Pospiech, M., Tremlová, B., Renčová, E., Randulová, Z., Řezáčová Lukášková, Z. Pokorná, J. (2011). Comparison of the Results of the ELISA, Histochemical, and Immunohistochemical Detection of Soya Proteins in Meat Products. *Czech J. Food Sci.* vol. 29, no. 5, p. 471-479.
- Sheu, S. C.; Tsou, P. C.; Lien, Y. Y.; Lee, M. S. Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assays for the rapid detection of allergic peanut in processed food. *Food chemistry*, 2018, vol. 257, p. 67-74.
- Toomer, O. T. Nutritional chemistry of the peanut (*Arachis hypogaea*). *Critical reviews in food science and nutrition*, 2017, p. 1-12.
- Young, C.T.; Schadel, W.E. Microstructure of peanut seed: a review. *Food structure*, 1990, vol. 9, no. 4, p. 317 – 328.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem IGA 224/2018/FVHE Veterinární a farmaceutické univerzity Brno.

Kontaktní adresa

Mgr. Ludmila Luňáková, VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, e-mail: lunakoval@vfu.cz

Zloženie jednotlivých frakcií mlieka vo vemene bahníc a vplyv metódy zisťovania

Composition of individual milk fractions in the udder and effect of the detection method

**Mačuhová, L.¹, Tančin, V.^{1,2}, Jackuliaková, L.², Uhrinčat', M.¹, Mačuhová, J.³
Oravcová, M.¹**

¹Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky

²Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Katedra veterinárskych disciplín, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

Veterinárni a farmaceutická univerzita Brno

³Institute for Agricultural Engineering and Animal Husbandry, Prof. Dürrwaecher Platz 2, 85586 Poing, Germany

Súhrn

Cieľom práce bolo zistiť zloženie a množstvo mlieka, ktoré sa nachádza v cisternovom a alveolárnom oddelení vemena, ako aj vplyv metódy použitej pri získavaní týchto frakcií pri bahniciach plemien najčastejšie chovaných na Slovensku (cigája, n=9 a zošľachtená valaška, n=9). Merania prebiehali v mesiaci jún, t.j. v strednom štádiu laktácie. Počas dojenia sa zisťoval okrem objemu cisternového a alveolárneho mlieka aj tok mlieka. Zvieratám boli aplikované dve ošetrenia. Počas prvého večerného dojenia (atosiban ošetrovanie) bolo cisternové mlieko získané dojením po podaní atosibanu (10 µg/kg hmotnosti zvierat'a) a alveolárne mlieko bolo strojovo vydojené po podaní oxytocínu (4 IU, intravenózne). Nasledujúce večerné dojenie prebiehalo za obvyklých podmienok (kontrola). Celkový výdojok a maximálny tok mlieka sa signifikante ($P>0,05$) medzi ošetreniami nelíšili. Preukazné rozdiely ($P\leq 0,05$) boli pozorované v množstve cisternového a alveolárneho mlieka, kedy množstvo cisternového mlieka bolo vyššie počas kontrolného dojenia, čo poukazuje na uvoľnenie alveolárneho mlieka do cisterny pred odstránením cisternovej frakcie. Alveolárne mlieko oboch plemien bolo bohatšie na obsah tuku a sušiny v porovnaní s mliekom cisternovým.

Abstract

The aim of this work was to find out the composition and volume of the milk in the cisternal and alveolar compartments of the udder and possible influence of evaluation method evaluation on it in the most bred breeds in Slovakia (Tsigai, n = 9 and Improved Valachian, n = 9). Measurements took place in June, i.e. in middle stage of lactation. In addition to the volume cisternal and alveolar milk, the flow of milk was also recorded during milking. Two treatments were applied to the animals and control group. During first evening milking (atosiban treatment), cisternal milk was milked after administration of atosiban (10 µg/kg body weight) and alveolar milk was machine milked after oxytocin administration (4 IU, intravenously). Next evening milking, milking took place under normal conditions (control). No significant differences ($P>0.05$) were found in machine milked yield and maximum milk flow rate between treatments. The significant differences ($P\leq 0.05$) were found for milk when the amount

of cisternal milk was higher during control milking. Therefore, the ejection of alveolar milk to cistern before removing of cisternal milk cannot be excluded. The alveolar milk of both breeds was richer in fat and dry matter compared to the milk of cisternal.

Kľúčové slová: *cisternové mlieko, alveolárne mlieko, atosiban, zloženie mlieka, bahnice*

Úvod

Prerozdelenie mlieka medzi cisternové a alveolárne oddelenie môže vplývať na sekréciu, ako a aj na množstvo výdojku v reakcii na predĺžený interval dojenia (Salama a kol., 2004). Pomer medzi cisternovým a alveolárnym mliekom môže byť ovplyvnený metódou použitou na zistenie prerozdelenia mlieka vo vemene, nakoľko počas manipulácie s vemenom zvieratá môže dôjsť k príležitostnému uvoľňovaniu oxytocínu (Salama a kol., 2004; Rovai a kol., 2008). Pôsobeniu oxytocínu na úrovni mliečnej žľazy je možné zabrániť použitím oxytocínového antagonistu, ktorý blokuje väzbu oxytocínu k oxytocínovému receptoru vo vemene na úrovni myoepitelových buniek, a preto nemôže nastať spúšťanie mlieka v priebehu dojenia čím sa vydojí len cisternová frakcia mlieka (McKusick a kol., 2002, Wellnitz a kol., 1999). Na tento účel sa pri dojných zvieratách využíva atosiban (McKusick a kol., 2002; Rovai a kol., 2008; Ayadi a kol., 2014). Inhibíciu je možné prerušiť podaním suprafyziologických dávok oxytocínu (McKusick a kol., 2002; Rovai a kol., 2008). Cieľom práce bolo zistiť zloženie a množstvo mlieka, ktoré sa nachádza v cisternovom a alveolárnom oddelení vemena, ako aj vplyv metódy použitej pri získavaní týchto frakcií.

Materiál a metodika

Do pokusu bolo na základe úžitkovosti (celkový výdojok na pôdoj nad 0,40 l) zaradených 18 ks zvierat plemien cigája ($n=9$) a zošľachtená valaška ($n=9$). Pokus prebiehal v mesiaci jún, t.j. v strednom štádiu laktácie. Zvieratá boli dojené dvakrát denne v dojárni 1x24 s 12 dojacími jednotkami. Parametre dojacieho zariadenia boli nasledovné: frekvencia pulzácie 160 cyklov/min., podtlak 39 kPa a pulzačný pomer 50:50. Kinetika toku mlieka bola zaznamenávaná individuálne pomocou odmerných valcov, v ktorých sa nachádzala elektromagnetická tyč na snímanie výšky hladiny tekutiny. Tá bola napojená na počítač, ktorý to v sekundových intervaloch zaznamenával. Z nameraných údajov bolo možné zistiť množstvo a intenzitu toku mlieka (Tančin a kol., 2011).

Získavanie cisternového a alveolárneho mlieka prebiehalo dvomi metódami. Počas prvého večerného dojenia bol zvieratám pred dojením intravenózne podávaný oxytocínový receptor blokujúci agent – atosiban (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ hmotnosti zvieratá v 2 ml fyziologického roztoku). Dojenie sa uskutočnilo do 10 min po podaní atosibanu. Dojenie prebiehalo bez predstimulácie a po 70 s bolo uskutočnené dodávanie. Po ukončení toku mlieka bola odobratá vzorka na zloženie mlieka (bielkoviny, tuk, laktóza, sušina, beztuková sušina). Potom boli bahniciam podané 4 IU (intravenózne) oxytocínu. Po 1,5 minúte boli bahnice opätovne podojené kvôli získaniu alveolárneho mlieka a aj po ukončení tohto dojenia bola odobraná vzorka mlieka na analýzu zloženia mlieka. Na druhý deň pri večernom dojení bolo vykonané kontrolné dojenie, kedy dojenie prebiehalo obvyklým spôsobom, t.j. dojacie súpravy boli nasadené bez akejkoľvek predchádzajúcej stimulácie vemena. Data boli spracované SAS/STAT 9.1, (2002-2003) použitým párového t-testu.

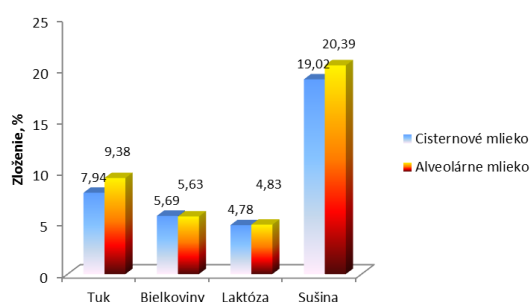
Výsledky a diskusia

Hodnoty prerozdelenia mlieka vo vemene po podaní atosibanu a bez podania atosibanu sa nachádzajú v tabuľke č. 1. Celkový výdojok a maximálny tok mlieka sa neodlišovali signifikantne ($P > 0,05$) medzi ošetreniami. Preukazné výsledky ($P \leq 0,05$) sa zistili v množstve cisternového a alveolárneho mlieka, kedy množstvo cisternového mlieka bolo vyššie počas kontrolného dojenia (65 % vs. 91 %) a naopak množstvo alveolárneho mlieka po ošetrení atosibanom ($0,39 \pm 0,06$ vs. $0,28 \pm 0,10$ l). Aj v štúdií Rovai a kol. (2008) zistili pri plemenách manchega a lacaune vyššie percentuálne zastúpenie cisternového mlieka pri zvieratách, ktorým nebol podávaný atosiban v porovnaní so zvieratami, ktorým bol podávaný atosiban (59 % vs. 52 % a pri plemene manchega 77% vs. 68 % pri plemene lacaune). Toto poukazuje na možné uvoľňovanie alveolárneho mlieka vplyvom manipulácie s vemenom. Mačuhová a kol. (2008) pri plemenách cigája, zošľachtená valaška a ich (50 %) krížencov s plemenom lacaune pozorovali nižšie percentuálne zastúpenie cisternovej frakcie mlieka pri obvyklom spôsobe dojenia (bez podania atosibanu) (54 až 60 % v závislosti od hodnoteného typu toku mlieka).

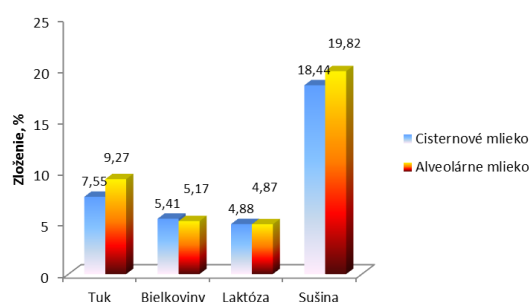
Tabuľka 1: Prerozdelenie mlieka vo vemene bahnic po ošetrení atosibanom a počas kontrolného dojenia

Parameter	Ošetrovanie		
	Atosiban (n=9)	Kontrola (n=9)	P
Celkový výdojok, l	$0,42 \pm 0,11$	$0,43 \pm 0,06$	0,905
Cisternové mlieko, l	$0,28 \pm 0,10$	$0,39 \pm 0,06$	0,005
Alveolárne mlieko, l	$0,15 \pm 0,06$	$0,04 \pm 0,02$	0,001
Maximálny tok mlieka, l/min	$0,84 \pm 0,35$	$0,90 \pm 0,24$	0,455

Porovnanie zloženia mlieka cisternovej a alveolárnej frakcie pri plemene cigája sa nachádza na grafe 1 a pri plemene zošľachtená valaška na grafe 2. Obsah bielkovín, laktózy a sušiny sa neodlišoval signifikantne medzi ošetreniami ($P > 0,05$).



Graf 1: Zloženie mlieka cisternovej a alveolárnej frakcie pri plemene cigája



Graf 2: Zloženie mlieka cisternovej a alveolárnej frakcie pri plemene zošľachtená valaška

Avšak cisternová frakcia mlieka pri cigajách, ako aj pri zošľachtených valaškách obsahovala menej tuku ako frakcia alveolárna ($P \leq 0,05$). Rozdielnosť obsahu tuku medzi frakciami môže byť spôsobená viskozitou a veľkou veľkosťou tukových guľôčiek, ktoré neprejdú voľne do cisterny, a teda sa akumulujú v alveolárnom priestore (McKusick a kol., 2002a; Ayadi a kol., 2014). Z tohto vyplýva, že ejakcia mlieka je počas dojenia nutná aj pre získanie mlieka, ktoré je bohaté na mliečny tuk (McKusick a kol., 2002a;

Antonič a kol., 2013a). Obsah tuku aj sušiny v obidvoch frakciách mlieka bol vyšší pri plemene cigája v porovnaní s plemenom zošľachtená valaška.

Záver

Na základe výsledkov tejto práce sme zistili, že alveolárne mlieko oboch plemien (cigája a zošľachtená valaška) je bohatšie na obsah tuku a sušiny v porovnaní s mliekom cisternovým. Aj napriek pomerne veľkému objemu mlieka nachádzajúcemu sa v cisterne vemena bahníc je pre kompletne vydojenie a obsah tuku potrebný vznik reflexu ejekcie mlieka.

Literatúra

Antonič J., Mačuhová L., Uhrinčať M. and Tančin V., 2013. The effect of milk ejection occurrence before or during machine milking on milkability and milk composition of ewes. In Veterinarija ir zootechnika. 61: 3-7. ISSN 1392-2130.

Ayadi M., Matar A. M., Aljumaah R. S., Alshaikh M. A. and Abouheif M. A., 2014. Evolution of udder morphology, alveolar and cisternal milk compartment during lactation and their relationship with milk yield in Najdi sheep. Spanish J. Agri. Res. 12: 1061-1070.

Mačuhová L., Uhrinčať M., Mačuhová J., Margetín, M. and Tančin, V., 2008. The first observation of milkability of the sheep breeds Tsigai, Improved Valachian and their crosses with Lacaune. Czech J. Anim. Sci. 53: 528-536.

McKusick B. C., Thomas D. L., Berger Y. M. and Marnet P. G., 2002. Effect of milking Interval on alveolar versus cisternal milk accumulation and milk production and composition in dairy ewes. J. Dairy Sci. 85: 2197-2206.

Rovai M., Caja G. and Such X., 2008. Evaluation of udder cisterns and effects on milk yield of dairy ewes. J. Dairy Sci. 91: 4622-4629.

Salama A. A. K., Caja G., Such X., Peris S., Sorensen A. and Knight C. H., 2004. Changes in cisternal udder compartment induced by milking interval in dairy goats milked once or twice daily. J. Dairy Sci. 87: 1181-1187.

Tančin V., Mačuhová L., Oravcová M., Uhrinčať M., Kulinová K., Roychoudhury S. and Marnet P. G., 2011. Milkability assessment of Tsigai, Improved Valachian, Lacaune and F1 Crossbred ewes (Tsigai x Lacaune, Improved Valachian x Lacaune) throughout lactation. Small Rum. Res. 98: 28-34.

Wellnitz O., Bruckmaier R. M., Albrecht C. and Blum J. W. 1999. Atosiban, an oxytocin receptor blocking agent: pharmacokinetics and inhibition of milk ejection in dairy cows. J. Dairy Res. 66: 1-8.

PodĎakovanie

Práca bola realizovaná v rámci APVV-15-0072.

Kontaktná adresa

Ing. Lucia Mačuhová, PhD.

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum

Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra

Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky,

e-mail: macuhova@vuzv.sk

Stanovení nutričně významných prvků ve vegetariánských potravinách

Determination of nutritionally significant elements in vegetarian foods

Macharáčková, B., Kameník, J.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, FVHE, Ústav gastronomie

Souhrn

Vegetariánské potraviny se v posledních letech stávají oblíbenými z důvodu zvyšování příjmu rostlinných produktů, z důvodů filozofických, náboženských i ekologických. Ale vždy je nutné sledovat obsah jednotlivých prvků ve vegetariánské stravě, a také jejich biologickou dostupnost. Tato práce se zabývá stanovením prvků Mg, Zn, Ca a Fe metodou atomové absorpční spektrometrie. Obsah jednotlivých prvků byl stanoven ve 30 komerčně dostupných potravinách po mineralizaci na mokré cestě směsí kyseliny dusičné a peroxidu vodíku. Potraviny obsahovaly variabilní obsah jednotlivých prvků. Obsah Mg byl v rozmezí 0 – 1 037 mg/kg, Zn (0 – 25,2 mg/kg), Ca (0 – 1 219,5 mg/kg) a Fe (0 – 59,2 mg/kg).

Abstract

In recent years vegetarian foods has become popular due to increased intake of plant products, for philosophical, religious and ecological reasons. However, it is always necessary to monitor the content of particular elements in the vegetarian diet, as well as their bioavailability. This work deals with the determination of Mg, Zn, Ca and Fe elements using atomic absorption spectrometry. The content of individual elements was determined in 30 commercially available foods after wet-bed mineralization with a mixture of nitric acid and hydrogen peroxide. Foods contained a variable content of particular elements. Mg content ranged from 0 – 1, 037 mg/kg, Zn (0 – 25,2 mg/kg), Ca (0 – 1 219,5 mg/kg) and Fe (0 – 59,2) mg/kg.

Klíčová slova: *vegetariánské potraviny, atomová absorpční spektrometrie, hořčík, zinek, vápník a železo*

Úvod

Stopové prvky jsou nezbytnou součástí výživy vyžadovanou lidským tělem v malém množství (Syahfitri et al., 2017). Jsou zapotřebí k udržování normální fyziologické funkce a jsou zapojeny do mnoha procesů metabolismu. Dostatečný příjem těchto mikronutrientů je nezbytný pro prevenci onemocnění spojených s jejich nedostatkem. Riziko nutriční nedostatečnosti a související patologické stavy závisí na širokém spektru faktorů, včetně rozsahu příjmu potravy, postupů zpracování, přítomnosti látek, které by mohly snížit nebo zvýšit minerální biologickou dostupnost a dále na fyziologickém a zdravotním stavu jednotlivce (Vrhovnik et al., 2016). Důležitou roli při utváření vegetariánské stravy hrají stopové prvky železo a zinek. Zinek je lépe využitelný z živočišných než z rostlinných potravin. S vyloučením masa a se současným zvýšeným příjmem luštěnin a celých zrn obsahujících fyát, což je složka, která může inhibovat využitelnost zinku v organismu při vstřebávání, je absorpce zinku i železa nižší z vegetariánské stravy než ze stravy nevegetariánské (Hunt, 2003). Chemická forma železa je důležitým faktorem, který ovlivňuje dostupnost železa z vegetariánských potravin. Přestože vegetariánská strava pravděpodobně obsahuje železo v množství

odpovídající stravě nevegetariánské, bude železo z vegetariánské stravy zřejmě méně k dispozici pro absorpci, z důvodu rozdílu v chemické formě železa (Hunt, 2003). Organismus dobře vstřebává železo v hemové formě. Maso vzhledem k tomu, že poskytuje železo v lehce vstřebatelné formě, představuje hlavní zdroj železa v naší stravě. Při nedostatku hořčíku se vyskytují zjevné kardiovaskulární a neurologické symptomy, stejně jako neschopnost adekvátně tvořit kostní tkáň, související také s nedostatkem vitamínu D a parathormonu (Abrams and Atkinson, 2003). Vápník je označován jako makroorganický minerál, je velmi důležitý kvůli svému přímému vztahu ke kostní hmotě a zubům, hraje významnou regulační roli v četných biochemických a fyziologických procesech (Syahfitri et al., 2017).

Materiál a metodika

Vzorky analyzovaných potravin byly zakoupeny v maloobchodních prodejnách v městě Brno. Celkem bylo analyzováno 30 vzorků potravin, 11 vzorků vegetariánských výrobků bylo zakoupeno dvakrát, pro porovnání byly zařazeny i klasické výrobky – Gothajský salám, Javořické párky, šunka, paštika a smažený kuřecí řízek. Byly připraveny homogenizované vzorky a následně byla provedena mineralizace na mokré cestě. Tlakový rozklad byl proveden v uzavřeném systému směsí kyseliny dusičné a peroxidu vodíku. Tlakový rozklad probíhal ve dvou stupních s maximem teploty 200 °C a mikrovlnou silou až do 1 000 W. Analytické stanovení prvků probíhalo na přístroji ContrAA 700 (Analytik Jena AG, Jena, Německo) metodou plamenové atomizace FAAS s plamenem acetylen-vzduch (Mg, Zn), s plamenem acetylen-oxid dusný (Ca) a metodou elektrotermické atomizace ETA-AAS (Fe). Pro jednotlivé kalibrace byla připravena ze standardních roztoků prvků o koncentraci 1 g/l řada 3 až 5 roztoků. Kalibrace pro stanovení vápníku byla připravena v prostředí roztoku lanthanu 1 g/l. Parametry měření a stanovení jednotlivých prvků jsou uvedeny v tabulce 1. Všechna stanovení byla provedena třikrát, jako výsledná hodnota byl použit průměr ze tří měření. Správnost metody byla ověřena pomocí standardního referenčního materiálu 1566 b (Oyster tissue, National Institute of Standards and Technology U.S.). Referenční materiál byl rozložen a proměřen stejnou metodou jako vzorky. Deklarované obsahy v referenčním materiálu jsou Mg (0,3297 ± 0,0053 %), Zn (1 424 ± 46 mg/kg), Ca (0,0838 ± 0,0020 %) a Fe (205,8 ± 6,8 mg/kg).

Tabulka 1: Parametry měření a stanovení jednotlivých prvků

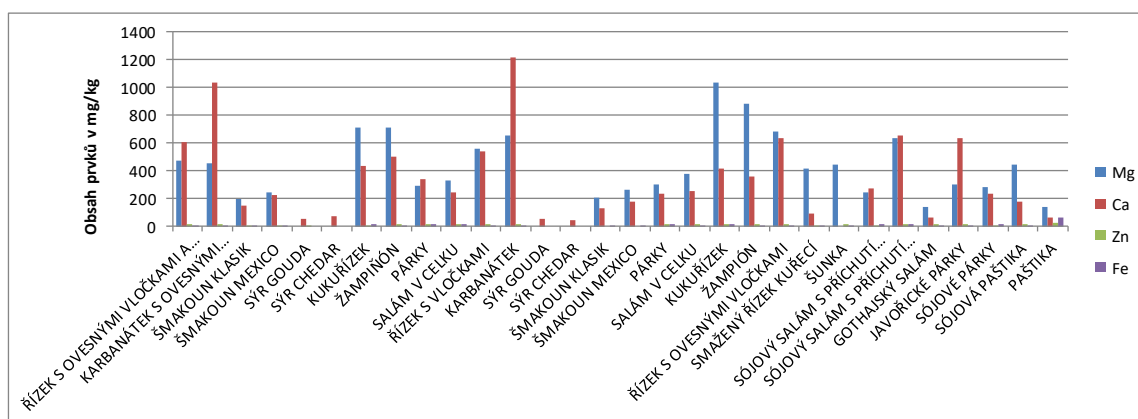
Prvek	Vlnová délka λ (nm)	Limit detekce LOD (mg.l ⁻¹)	Limit stanovení LOQ (mg.l ⁻¹)	Citlivost stanovení (mg.l ⁻¹)	R ²	Regresní rovnice $y = a + bx$
Mg	202,582	1,716	6,577	0,0263	0,9668	$y = 0,0118 + 0,0263x$
Zn	213,857	0,069	0,27	0,3952	0,9947	$y = 0,0078 + 0,3952x$
Ca	422,673	0,1157	0,4399	0,3367	0,9962	$y = 0,0440 + 0,3367x$
Fe	248,327	235,50	864,50	0,0277	0,9912	$y = 0,2248 + 0,0277x$

Výsledky a diskuze

Obsah prvků Mg, Zn, Ca a Fe byl stanoven ve vegetariánských potravinách, pro porovnání byly zařazeny i potraviny klasické – Gothajský salám, Javořické párky, šunka, paštika a smažený kuřecí řízek. Statistické vyhodnocení zastoupení jednotlivých prvků je uvedeno v tabulce 2. Nejvyšší obsah hořčíku byl ve výrobku kukuřiček (1 037 mg/kg), nejnižší (nulový) obsah byl ve výrobcích sýr gouda a cheddar, obsah byl pod mezí detekce přístroje. Koncentrace zinku se pohybovala v rozpětí 0 – 25,2 mg/kg. Nejvyšší koncentrace zinku byla stanovena v klasickém výrobku paštika. Koncentrace Zn pod mezí detekce byla stanovena v pěti potravinách – sýr cheddar (dva druhy), sýr gouda, šmakoun klasik a šmakoun mexiko. Průměrný obsah vápníku v jednotlivých potravinách byl 331,1 mg/kg. Nejvyšší stanovené množství Ca bylo v karbanátku (1 219,5 mg/kg), výrobek šunka neobsahoval žádný vápník. Průměrný obsah železa byl 9,1 mg/kg. Nejvyšší množství Fe (59,2 mg/kg) bylo stanoveno ve výrobku paštika. Obsah železa pod mezí detekce byl stanoven v sýru gouda a cheddar. V grafu 1 je uvedena koncentrace stanovovaných prvků v jednotlivých potravinách. Mezi klasické potraviny patřil gothajský salám, který obsahoval 137,4 mg/kg hořčíku, 11,3 mg/kg zinku, 66,6 mg/kg vápníku a 4,1 mg/kg železa. Dále pak Javořické párky, které obsahovaly tyto koncentrace jednotlivých prvků: Mg (299,3 mg/kg), Zn (14,9 mg/kg), Ca (630,8 mg/kg) a Fe (8,1 mg/kg), výrobek paštika obsahoval Mg (135,9 mg/kg), Zn (25,2 mg/kg), Ca (67,5 mg/kg) a Fe (59,2 mg/kg), šunka obsahovala Mg (442,8 mg/kg), Zn (19,3 mg/kg), Ca (0 mg/kg) a Fe (3,6 mg/kg) a smažený kuřecí řízek obsahoval Mg (420,6 mg/kg), Zn (8,6 mg/kg), Ca (95,8 mg/kg) a Fe (3,2 mg/kg).

Tabulka 2: Statistické vyhodnocení zastoupení jednotlivých prvků

	Mg (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Ca (mg/kg)	Fe (mg/kg)
Průměr	380,7	10,4	331,1	9,1
SD	265,0	6,5	293,9	10,5
Medián	315,4	12,0	241,3	8,2
MIN	0	0	0	0
MAX	1 037	25,2	1 219,5	59,2
Rozptyl	67 894,6	41,5	83 474,6	107,1



Graf 1: Obsah prvků (mg/kg) v jednotlivých potravinách

Závěr

Vegetariánská strava může obsahovat téměř srovnatelná množství jednotlivých živin jako strava nevegetariánská, ale vždy záleží z jakých surovin je vyrobená. Z tohoto důvodu je nutné sledovat složení jednotlivých výrobků. Dle stanovení obsahu prvků bylo zjištěno, že výrobky typu cheddar a gouda neobsahovaly žádný Mg, Zn a Fe a jen velmi nízké množství vápníku (47,9 – 72,0 mg/kg). Nejvyšší množství železa a zinku bylo stanoveno v klasickém výrobku paštika (59,2 mg/kg, resp. 25,2 mg/kg), nejvyšší obsah hořčiku ve vegetariánském výrobku kukuřizek (1 037 mg/kg) a nejvyšší obsah vápníku byl ve vegetariánském výrobku karbanátek (1 219,5 mg/kg). Některé typy výrobků obsahovaly velmi nízké či nulové koncentrace jednotlivých prvků.

Literatura

- Abrams, S. A. and Atkinson, S. A. (2003). Calcium, magnesium, phosphorus and vitamin D fortification of complementary foods. *The Journal of nutrition*, 133(9), p. 2994-2999.
- Hunt, J. R. (2003). Bioavailability of iron, zinc, and other trace minerals from vegetarian diets. *The American journal of clinical nutrition*, 78(3), p. 633-639.
- Syahfitri, W.Y.N., Kurniawati, S., Adventini, N., Damastuti, E., Lestiani, D.D. (2017). Macroelemental analysis of food samples by nuclear analytical technique. In *Journal of Physics: Conference Series*, 860 (1), p. 012023). IOP Publishing.
- Vrhovnik, P., Dolenc, M., Serafimovski, T., Tasev, G., Arrebola, J.P. (2016). Assessment of essential and nonessential dietary exposure to trace elements from homegrown foodstuffs in a polluted area in Makedonska Kamenica and the Kočani region (FYRM). *Science of the Total Environment*, 559, p. 204-211.

Kontaktní adresa

Ing. Blanka Macharáčková, Ph.D.
VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav gastronomie
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
e-mail: macharackovab@vfu.cz

Kvalita masla vyrábaného v mini zariadeniach určených pre malých farmárov

The quality of a butter produced in mini equipments designed for the small farmers

Maľová, J., Semjon, B., Andrašková, T.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

V práci sme sa zamerali na výrobu masla v mini zariadeniach určených pre malých farmárov, na fyzikálno-chemické a senzorycké hodnotenie vyrobených masiel a porovnanie ich kvality s maslom vyrobeným vo výrobnom závode.

Kvalita masla je ovplyvnená rôznymi faktormi. Za najdôležitejší možno považovať výber mlieka, z ktorého odstrednením získavame smotanu určenú na výrobu masla. V ďalšom rade mlieko musí spĺňať legislatívne požiadavky na obsah jeho zložiek. Dôležitý je obsah tuku, ktorý má výrazný vplyv na množstvo smotany a následne na objem vyrobeného masla. Významným ukazovateľom kvality je aj obsah vody v masle. Môžeme skonštatovať, že pri výrobe masla v našom mini zariadení sa nám nepodarilo splniť požiadavku na maximálny obsah vody v masle ustanovený legislatívou.

Abstract

In these work we focused on the production of butter in mini-equipment designed for the small farmers, the physical-chemical and sensory evaluation of produced butter and the comparison of the quality with the butter produced in the production factory.

The quality of the butter is influenced by various factors. The most important of all is the selection of milk from which the cream is produced by centrifuging. To a greater extent, milk must comply with the legislative requirements for its ingredients. The fat content is important, which has a significant effect on the amount of cream and consequently on the volume of butter produced. An important indicator of quality is the water content in the milk. We can conclude that in the production of butter in our mini-equipments we have failed to meet the requirement for the maximum water level in milk set by the legislation.

Kľúčové slová: *maslo, výroba, kvalita*

Úvod

Maslo patrí medzi najzákladnejšie potraviny, no v súčasnosti ho môžeme považovať za luxusný tovar. Cena tohto obľúbeného výrobku s veľkou intenzitou stúpa nie len na Slovensku, ale v celej Európe (Kováčsová, 2018).

Celková produkcia mlieka zaznamenala 4%-ný pokles na Slovensku a 2,3%-ný pokles v Európe. Znížená produkcia mlieka má za následok to, že na trhu je nedostatok masla. V apríli 2016 bolo v zásobe ešte 100 000 ton masla, tento rok už je iba 1 500 ton. Podľa Štatistického úradu Slovenskej republiky cena 250g masla zvýšila za rok približne o 14% (ŠÚ SR, 2018).

Spotreba mlieka a výrobkov z neho na Slovensku nie je dostatečná (Herian, 2017). V Európe priemerná spotreba masla je okolo 4,6 kg na osobu za rok, pričom v Nemecku je to 6,5 kg/osobu/rok a vo Francúzku až 7,8 kg/osobu/rok. Na Slovensku spotreba

masla oproti týchto štátov je nízka, pohybuje okolo 3,8 kg na jednu osobu za rok (Herian, 2017).

Maslo je výrobok, ktorý sa svojim zložením odlišuje od iných mliečnych výrobkov. Jedná sa o produkt vyrobený zo smotany, ktorého hlavnou zložkou je mliečny tuk. Jeho nutričný význam spočíva v jeho energetickej hodnote a v obsahu dôležitých vitamínov. Na druhej strane, nevýhodou masla je vysoké množstvo cholesterolu a transmastných kyselín (Olejková, 2013).

Materiál a metodika

V práci sme analyzovali celkovo 11 vzoriek (3 vzorky mlieka, 3 vzorky smotany a 5 vzoriek masla. Získali sme surové kravské mlieko 2-krát zo Školského poľnohospodárskeho podniku Zemplínska Teplica a 1-krát z nemenovaného mliečného expresu, o objeme cca 15 – 30 litrov. Surové kravské mlieka boli tepelne ošetrované (vzorky A₁, A₂, A₃), odstredené a následne boli zo získanej smotany (vzorky B₁, B₂, B₃) vyrobené maslá (vzorky C₁, C₂, C₃).

Pomocou prístroja LactiCheck sme stanovili obsah základných zložiek mlieka (obsah tuku, beztukovej sušiny, bielkovín, vody a laktózy) a stanovené boli aj základné fyzikálno – chemické ukazovatele (hustota, konduktivita, pH).

Vo vzorkách smotany sme hodnotili fyzikálno – chemické parametre (titračnú kyslosť a dôkaz tepelného ošetrovania mlieka).

Každú vzorku vyrobeného masla sme stanovili fyzikálno – chemicky (obsah vody, obsah soli) a senzorycky. Ku kvalitatívnemu hodnoteniu boli pre porovnanie zakúpené aj dve maslá z obchodnej siete (vzorky C₄, C₅). Senzorické hodnotenie masla spočívalo v hodnotení vzhľadu, konzistencie, vône a chuti.

Mlieko bolo odstreďované v malej elektrickej odstredivke pre domáce použitie (odstredivka na mlieko Milky FJ60 AP) s kapacitou 60 litrov za hodinu (Anonym, 2018). Na výrobu masla sme použili maselnicu Milky FJ10 – elektrická, prístroj na stĺkanie masla, určená pre malých farmárov alebo na domácu výrobu masla (Kolářik, 2018).

Výsledky a diskusia

Najvýraznejšie rozdiely v rámci fyzikálno-chemickej analýzy vyšetřovaného surového kravského mlieka boli zistené v obsahu tuku (Tabuľka 1). Jedna vzorka pochádzajúca zo Školského poľnohospodárskeho podniku Zemplínska Teplica A₂ (3,20g) a vzorka A₃ (3,22g) zakúpená z nemenovaného mliečného expresu nespĺňali legislatívou stanovenú minimálnu hodnotu, t. j. 3,3g/100g mlieka.

Tabuľka 1: Výsledky vyšetřenia surového kravského mlieka

MLIEKO	Tuk (g)	BTS (g)	Bielkoviny (g)	Laktóza (g)	H₂O (g)	pH	Hustota (g/cm³)
Vzorka A ₁	3,46	9,96	3,73	5,49	0	6,729	34,3
Vzorka A ₂	3,20	10,10	3,77	5,60	0	6,695	36,63
Vzorka A ₃	3,22	9,95	3,72	5,47	0	6,689	34,46

Výraznejšie rozdiely pri vyšetření smotany boli len v obsahu tuku, pričom najnižší obsah tuku vykazovala vzorka B₃ (22%). Prítom na výrobu masla sa používa smotana

s obsahom tuku 30-40 % pri odstredovacej metóde, 35-43 % pri penotvornej metóde (Vyhláška MP a RV SR č. 343/2016). Pri výrobe masla z vlastnej smotany boli maslá (C₁, C₃) vymútené za 20 - 25 minút a získali sme približne 890 g masla. Pri výrobe masla z kúpenej 33%-nej šľahačkovej smotany (vzorka C₂) mútenie trvalo 47 minút a z dvoch litrov smotany sme získali cca 1000 g masla. Na mútenie a na objem masla má výrazný vplyv objem mlieka ako aj obsah tuku v smotane, ktorá sa používa na výrobu masla. Podľa Janštovej (2012) sa na výrobu masla má používať vysokotučná smotana s obsahom tuku 36 – 40 %.

Vyšší obsah vody (nad 18%) sme stanovili vo všetkých našich vzorkách masla (Tabuľka 2). Obsah vody vo vzorke C₂ (33%) sme stanovili hneď po dôkladnom premytí studenou vodou. Vzorka C₃ mala zvýšený obsah vody len o 1 % (19%), vzorka C₁ o 4 % (22%). Množstvo vody v týchto vzorkách sme stanovili až na druhý deň po ich výrobe. Predpokladáme, že cmar a následne vodu po oplachu sme z nášho mini-zariadenia nevedeli odstrániť úplne, iba čiastočne. Do masiel, ktoré sme vyrobili sme soľ nepridávali.

Tabuľka 2: Výsledky vyšetrenia masla vyrobeného v mini zariadení

VYROBENÉ MASLO	Obsah vody (%)	Obsah soli (%)	pH
Vzorka C ₁	22	0,011	6,68
Vzorka C ₂	33	0	5,10
Vzorka C ₃	19	0,010	6,67

V rámci senzorickeho hodnotenia ako najlepšie maslo bola vyhodnotená vzorka C₃, ktorá bola vyrobená zo zakúpeného mlieka z nemenovaného mliečneho expresu. Jeho chuť a vôňa bola čistá, lahodne príjemná, po sladkej smotane. Farba bola jednotná, žltkastá, na reze mierne lesklá, bez výskytu väčších kvapôčok vody a cmaru. Konzistencia tejto vzorky masla bola celistvá, vhodne tvrdá a dobre roztierateľná.

Z hľadiska vzhľadu a konzistencie ako najhoršie maslo bola vyhodnotená vzorka C₂. Táto vzorka bola svetlejšia, jej konzistencia bola mäkká, cestovitá, na reze s výskytom väčších kvapôčok vody.

Pri porovnaní vzoriek masla vyrobených v mini zariadení s maslami z obchodnej siete boli zistené rozdiely v niektorých senzorickejších vlastnostiach. Farba nami vyrobených vzoriek (C₁, C₂ a C₃) bola výrazne svetlejšia, než farba vzoriek C₄ a C₅ pochádzajúcich z obchodu. Kým konzistencia vzoriek C₁ a C₃ bola podobná vzorkám kúpeným, konzistencia vzorky C₂ bola odlišná – výrazne mäkkšia.

Záver

Nakoľko zámerom práce bolo vyrobiť maslo v mini zariadení, ktoré je určené pre malých farmárov a na domácu výrobu, dospeli sme k záveru, že kvalita masla je ovplyvnená rôznymi faktormi. Za najdôležitejší možno považovať výber mlieka, z ktorého odstredením získavame smotanu určenú na výrobu masla. V ďalšom rade mlieko musí spĺňať legislatívne požiadavky na obsah jeho zložiek. Dôležitý je obsah tuku, ktorý má výrazný vplyv na množstvo smotany a následne na objem vyrobeného masla. Významným ukazovateľom kvality je aj obsah vody v masle. Môžeme skonštatovať, že pri výrobe masla v našom mini zariadení sa nám nepodarilo splniť požiadavku na maximálny obsah vody v masle ustanovený legislatívou. Znamená to, že aj v domácom prostredí je možné vyrobiť maslo, ktoré by spĺňalo senzoricke

požiadavky, avšak nevieme zaručiť prípustné limity pre obsah vody a obsah tuku v masle.

Taktiež sa nám potvrdila informácia od výrobcu, že pri zariadení maselnica Milky FJ10 je na výrobu masla potrebný minimálne 1 liter smotany, čo predstavuje aspoň 15 litrov vstupnej suroviny, teda mlieka. Ako optimálnejšie riešenie sa javilo použitie 2 litrov smotany, avšak na jej výrobu sme potrebovali získať až 30 l mlieka, čo samozrejme predražilo náklady. Takto vyrobené maslo pri cene vstupnej suroviny cca 0,70 – 0,80 € a nákladoch na energie sa nám javí ako nerentabilné. Význam týchto zariadení vidíme ani nie tak v domácom použití ako práve u malých farmárov, ktorý majú vstupnú surovinu k dispozícii.

Literatúra

Anonym. Elektrická odstredivka mlieka. Slnecná farma, [online]. Pliešovce. [cit. 2018.02.06.]. Dostupné na internete: <<http://eohradnik.sk/d/elektricka-odstredivka-mlieka-milky-fj-60-ap-kapacita-60-l-za-hodinu/14191/>>

Herian, K. Naozaj nie je maslo a mlieko zdraviu prospešné? [online]. Žilina. [cit. 2017.11.15.]. Dostupné na internete: <<http://vipa.sk/sites/default/files/Naozaj%20nie%20je%20maslo%20a.pdf>>

Janštová B. a kol. Technologie mléka a mléčných výrobků. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2012. 143 s. ISBN 978-80-7305-637-7

Kolářik, J. Máselnice na výrobu másla. Zemědělské Potřeby M+S. [online]. České Budějovice [cit. 2018.02.06.]. Dostupné na internete: <<https://www.eshop-zemedelske-potreby.cz/maselnice-na-vyrobu-masla-milky-fj-10-elektricka-p15821/>>

Kováčová, T. Výroba masla v mini zariadeniach. UVLF KE, 2018, 61 s.

Olejková, J. Zmena kvality masla v priebehu skladovania: diplomová práca. Brno: Mendelova univerzita, 2013. 91 s.

Štatistický Úrad SR, Drahé maslo je len začiatok. [online]. [cit. 2017.11.15.]. Dostupné na internete: <<https://www1.pluska.sk/Rady-a-tipy/Drahe-maslo-je-len-zaciatok.-Pozrite-sa-za-co-vsetko-si-este-priplatime>>

Vyhláška Ministerstva Pôdohospodárstva a Rozvoja Vidieka Slovenskej Republiky z 8. decembra 2016 č. 343/2016 o niektorých výrobkoch z mlieka, s. 1-9. 2016. [online]. [cit. 2017.04.06.]. Dostupné na internete: <<http://www.zakonypreludi.sk/zz/2016-343>>

Kontaktná adresa

MVDr. Jana Maľová, PhD.

UVLF Košice, Katedra hygieny a technológie potravín

Ústav hygieny a technológie mlieka

Komenského 73, 041 81 Košice

e-mail: jana.malova@uvlf.sk

**Biofermentované krmivo obohatené o významné polynenasýtené
mastné kyseliny – vplyv na profil mastných kyselín a kvalitatívne
parametre svaloviny brojlerových kurčiat**
*Biofermented feed enriched with polyunsaturated fatty acids – effect on
fatty acid profile and quality of produced broiler meat*

Marcinčák, S.¹, Bartkovský, M.¹, Mačanga, J.¹, Marcinčáková, D.¹, Klemková, T.²,
Čertík, M.², Hudák, M.¹

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

²Oddelenie biochemickej technológie, FCHPT STU, Bratislava

Súhrn

Cieľom práce bolo skrmovanie biofermentovaného produktu (BP), ktorý bol obohatený o významné polynenasýtené mastné kyseliny (PNMK) brojlerovým kurčatám a sledovanie jeho vplyvu na chemické zloženie, profil mastných kyselín a oxidačnú stabilitu tuku stehna. BP bol pripravený fermentáciou na tuhej fáze pomocou nižšej vláknitej huby *Mortierella alpina* CCF 2861, producent kyseliny arachidónovej (ARA) a eikozapentaenovej (EPA). Ako substrát pre fermentáciu boli použité pšeničné otruby. Skrmovanie 10 % BP brojlerovým kurčatám po dobu 28 dní nemalo výrazný vplyv na profil mastných kyselín tuku stehna. Obsah tuku bol v porovnaní s kontrolou výrazne nižší. Oxidačná stabilita tukov počas skladovania v chladničke (7 dní, 4 °C) bola v pokusnej skupine výrazne vyššia.

Abstract

In this experiment broiler chickens were fed with biofermented product (BP) enriched with important polyunsaturated fatty acids. The effect of feeding of BP on chemical content, fatty acid profile and oxidative stability of thigh meat was evaluated. BP was prepared by fermentation of wheat bran by filamentous fungi *Mortierella alpina* CCF 2861 in solid-state fermentation (SSF) process and the final product was enriched with eicosapentaenoic (EPA) and arachidonic (ARA) acid. Fattening of 10 % of BP to broiler chickens for 28 days did not affect profile of fatty acid in thigh meat. Fat content was significantly lower in comparison to control ($p < 0.05$). Oxidative stability of meat during chilling storage (7 d, 4 °C) was significantly higher in experimental group.

Kľúčové slova: brojler, mastné kyseliny, mäso, kvalita

Úvod

V posledných rokoch je zaznamenaný zvýšený záujem o metódy manipulácie zloženia mastných kyselín (MK) v tuku mäsa produkovaných zvierat, hlavne o zvýšenie podielu polynenasýtených mastných kyselín (PNMK) a naopak o zníženie podielu nasýtených mastných kyselín, ako aj vylepšenie pomeru n-3/n-6 PNMK. Mikrobiálne oleje bohaté na rôzne druhy biologicky aktívnych PNMK predstavujú ľahko dostupnú alternatívu najmä rybích olejov, ktorých produkcia je v súčasnosti regulovaná z hľadiska udržateľného rybného hospodárstva. Z výživársko-krmovínarskeho hľadiska je preto zaujímavá produkcia PNMK založená na procese polosuchých kultivácií nižších vláknitých húb. Atraktivnosť takýchto kultivácií spočíva vo využívaní ľahko dostupných substrátov na báze odpadových produktov z poľnohospodárskej

a potravinárskej výroby. Okrem produkcie PNMK napr. kyselina gama-linolénová (GLA), dihomogama-linolénová (DGLA), arachidónová (ARA), prítomné nižšie vláknité huby (napr. rody *Cunninghamella*, *Mortierella*, *Thamnidium*) svojou fermentačnou činnosťou produkujú významné enzýmy a eliminujú činnosť antinutričných látok (Čertík a i., 2013). V predchádzajúcich experimentoch bolo potvrdené, že niektoré druhy nižších vláknitých húb majú okrem schopnosti produkovať PNMK aj karotenoidné pigmenty (Klempová a i., 2013). Cieľom našej práce bolo sledovať účinok podávania fermentovaného krmiva v dávke 10 % (nahradením komerčnej krmnej zmesi) na kvalitu stehennej svaloviny (chemické zloženie, profil mastných kyselín a rozkladné zmeny tukovej zložky) brojlerových kurčiat.

Materiál a metodika

V experimente sa použilo 80 kusov kurčiat hybridu COBB 500. Kurčatá boli rozdelené na kontrolnú a experimentálnu skupinu (40 ks). Kurčatám experimentálnej skupiny bolo podávané krmivo obohatené o PNMK. Pripravené bolo fermentáciou na tuhej fáze za použitia nižšej vláknitej huby *Mortierella alpina* CCF 2861, ako producent kyseliny arachidónovej (ARA) a eikozapentaenovej (EPA). Ako substrát pre fermentáciu sme použili pšeničné otruby. Kontrolná skupina bola kŕmená štandardnými kŕmnymi zmesami počas celej doby výkrmu (38 dní). Pokusná skupina (biofermentované krmivo, BP) bola kŕmená kompletnými kŕmnymi zmesami (KKZ) BR1, BR2 a BR3 pričom od 10. dňa výkrmu bolo 10 % KKZ nahradených podielom fermentovaného krmiva. Kurčatá mali prístup k vode a krmivu *ad libitum*. Po zabití boli odobraté vzorky svaloviny. Vzorky boli zabalené do polyetylénových obalov a skladované v chladničke pri 4 °C počas 7 dní. Vykonali sme vyšetrenie základného chemického zloženia. Pre zistenie stability PNMK počas tepelného opracovania, boli vzorky svaloviny tepelne opracované (100 °C, 20 min). Stanovenie mastných kyselín bolo vykonané podľa Čertík a i. (2008). Oxidácia tukov vo svalovine bola stanovená pomocou metódy tiobarbiturového čísla (TBA) podľa Marcinčák a i. (2004) a bola tiež stanovená antioxidačná aktivita mäsa pomocou DPPH radikálu.

Tabuľka 6: Podiel mastných kyselín v tuku stehna pred a po tepelnom opracovaní

Mastné kyseliny (%)	Stehno		Stehno tepelne opracované	
	K	BP	K	BP
C16:0, PA	16,84± 1,80 ^b	19,95± 2,01 ^a	21,66 ± 1,24	20,40 ± 0,94
C18:0, SA	12,00 ± 1,43	13,00 ± 0,38	8,35 ± 1,34	9,93 ± 1,50
C18:1-9c, OA	31,00 ± 1,53 ^a	26,45 ± 0,44 ^b	35,49± 0,72 ^a	30,44 ± 2,97 ^b
C18:1-11c, VA	3,60 ± 0,22	3,22 ± 0,41	2,90 ± 0,03	3,27 ± 0,29
C18:2, LA	18,71 ± 0,79 ^b	20,81 ± 0,36 ^a	17,17 ± 0,61 ^b	20,24 ± 0,55 ^a
C18:3, GLA	0,01 ± 0,006	0,13 ± 0,03	0,12 ± 0,01	0,152 ± 0,02
C18:3, ALA	0,807 ± 0,10	1,02 ± 0,19	1,1 ± 0,25	1,2 ± 0,19
C20:3, DGLA	1,19 ± 0,24	0,78 ± 0,28	0,58 ± 0,08	0,78 ± 0,31
C20:4, ARA	6,57 ± 0,96	6,70 ± 1,10	3,32 ± 0,89	5,04 ± 1,22
C20:5, EPA	0,47 ± 0,15	0,57 ± 0,10	0,19 ± 0,03 ^b	0,25 ± 0,08 ^a
C22:5, DPA	0,27 ± 0,03 ^a	0,20 ± 0,09 ^b	0,11 ± 0,01 ^b	0,18 ± 0,05 ^a
C22:6, DHA	0,94 ± 0,22 ^b	0,69 ± 0,17 ^a	0,36 ± 0,06 ^b	0,52 ± 0,21 ^a
ΣNaMK	29,43 ± 0,45	33,64 ± 2,26	30,70 ± 1,20	30,98 ± 1,77
ΣNeMK	70,57 ± 1,08 ^a	66,36 ± 0,22 ^b	69,30 ± 0,22	69,02 ± 0,22
ΣPNMK n-3	3,39 ± 0,69	3,39 ± 0,46	2,30 ± 0,03	2,97 ± 0,43
ΣPNMK n-6	26,84 ± 1,75	28,62 ± 1,72	21,31 ± 0,7	26,40 ± 1,80
Pomer n-6/n-3	7,92 ± 1,42	8,44 ± 0,99	9,27 ± 0,23	8,90 ± 0,88

K – kontrolná skupina, BP – pokusná skupina – biofermentovaný produkt; NaMK – nasýtené mastné kyseliny, NeMK – nenasýtené mastné kyseliny, PNMK – polynenasýtené mastné kyseliny, ^{a,b} – štatisticky významný rozdiel v porovnaní s kontrolou platí samostatne pre stehno pred a po tepelnom opracovaní, $P < 0,05$.

Výsledky

V rámci experimentu boli vykonané analýzy mäsa zamerané na obsah mastných kyselín (najmä PNMK). Taktiež sme sledovali vplyv tepelného opracovania na profil mastných kyselín tukov mäsa. Výsledky analýz stehennej svaloviny sú uvedené v tabuľke 1. Skrmovanie fermentovaného krmiva s vyšším podielom kyseliny eikzapentaenovej a arachidónovej malo iba minimálny vplyv na nárast podielu týchto kyselín v tuku prsnej svaloviny pokusnej skupiny. Významné je však zistenie, že mastné kyseliny v mäse pokusnej skupiny boli po tepelnom opracovaní (varenie, 100 °C, 20 min) stabilné a významné PNMK vykazovali vyšší podiel ako v mäse kontroly. V tabuľke 2 je uvedené chemické zloženie stehennej svaloviny. V pokusnej skupine sme zaznamenali štatisticky významný pokles obsahu sušiny a tuku ($P < 0,05$).

Tabuľka 7: Chemické zloženie stehennej svaloviny

Stehno	Sušina	Tuk	Bielkoviny
Kontrola	31,13±0,19 ^a	13,00±0,35 ^a	18,32±0,27
BP	27,74±0,12 ^b	9,04±0,46 ^b	18,35±0,11

^{a,b} – hodnoty s rozdielnym označením v stĺpci sú štatisticky rozdielne ($P < 0,05$)

Účinok fermentovaného bioproduktu skrmovaného hydine na antioxidačnú aktivitu mäsa a rozkladné zmeny tukov mäsa (vyjadreného ako množstvo malónialdehydu) počas skladovania 7 dní v chladničke je uvedený v tabuľke 3 a 4. Z výsledkov vyplýva, že aj napriek nižšej antioxidačnej aktivite mäsa pokusnej skupiny v 1. deň skladovania v chladničke, boli v pokusnej skupine počas skladovania zaznamenané výrazne nižšie oxidačné zmeny v porovnaní s kontrolou.

Tabuľka 8: Rozkladné zmeny tukov stehna vyjadrené ako množstvo malón dialdehydu

Stehno	1. deň (mg.kg ⁻¹)	7. deň (mg.kg ⁻¹)
Kontrola	0,079±0,07 ^a	0,327±0,03 ^a
BP	0,065±0,02 ^b	0,305±0,02 ^b

^{a,b} – hodnoty s rozdielnym označením v stĺpci sú štatisticky rozdielne ($P < 0,05$)

Tabuľka 9: Antioxidačná aktivita mäsa počas chladiarenského skladovania (%)

Stehno	1. deň	7. deň
Kontrola	63,38±0,42 ^a	42,23±4,39
BP	52,63±5,22 ^b	40,42±1,58

^{a,b} – hodnoty s rozdielnym označením v stĺpci sú štatisticky rozdielne ($P < 0,05$), Zdroj: Vlastná tabuľka

Záver

Skrmovanie prefermentovaného produktu, získaného z mlynárskych odpadov, v dávke 10 % ovplyvnilo zloženie profilu mastných kyselín v stehennej svalovine kurčiat iba minimálne. Avšak obsah významných PNMK bol zachovaný aj po tepelnom opracovaní svaloviny. Skrmovanie prefermentovaného produktu znížilo obsah tuku v prsnej svalovine a tiež oxidačné zmeny tukov, čím sa zlepšila oxidačná stabilita mäsa počas skladovania.

Literatúra

Čertík, M. a i. Biotechnology for the functional improvement of cereal-based materials enriched with polyunsaturated fatty acids and pigments. In Eur. J. Lipid Sci. Technol. ISSN 1438-9312, 2013, vol. 115, no. 11, p. 1247-1256.

Klempová, T., Basil, E., Kubátová, A., Čertík, M.: Biosynthesis of gamma-linolenic acid and beta crothene bz Zygomycetes fungi, In Biotechnology Journal, 2013, vol. 8, ISSN 1860-7314, p.794-800.

Marcinčák, S., Sokol, J., Bystrický, P., Popelka, P., Turek, P., Bhide, M., Máté, D.: Determination of lipid oxidation level in broiler meat by liquid chromatography. In: J. AOAC Inter., 87, 5, 2004, 1148 – 1152.

PodĎakovanie

Realizácia experimentu bola finančne podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-14-0397.

Kontaktná adresa

Doc. MVDr. Slavomír Marcinčák, PhD.

Katedra hygieny a technológie potravín

Ústav hygieny a technológie mäsa

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

Stanovení syrovátkových bílkovin v kobyším mléce metodou RP-HPLC

Determination of whey proteins in mare milk by RP-HPLC method

Navrátilová, P., Borkovcová, I., Dluhošová, S., Kaniová, L., Králová, M.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Cílem studie bylo stanovení vybraných syrovátkových bílkovin α -laktalbuminu (α -LA), β -laktoglobulinu (β -LG), sérového albuminu (SA) a lysozymu (LYS) v individuálních vzorcích kobyšího mléka ($n=42$) a sledování změn během prvních 6 měsíců laktace. Syrovátkové bílkoviny byly stanoveny po vysrážení kaseinů kyselinou octovou metodou RP-HPLC. Průměrné hodnoty syrovátkových bílkovin za sledované období 6 měsíců byly pro β -LG $2,42 \pm 0,66$ g/l, α -LA $2,20 \pm 0,51$ g/l, SA $0,04 \pm 0,04$ g/l a LYS $0,56 \pm 0,13$ g/l. Byl zjištěn statisticky významný vliv stadia laktace na koncentraci syrovátkových bílkovin v kobyším mléce.

Abstract

The aim of this study was the determination of selected whey proteins α -lactalbumin (α -LA), β -lactoglobulin (β -LG), serum albumin (SA) and lysozyme (LYS) in individual samples of mare's milk ($n=42$) during a lactation period of 6 months. The content of whey proteins was monitored according to the stage of lactation. The milk proteins were determined after acidic casein precipitation by RP-HPLC method. Average values of whey proteins were for β -LG $2,42 \pm 0,66$ g/l, α -LA $2,20 \pm 0,51$ g/l, SA $0,04 \pm 0,04$ g/l and LYS $0,56 \pm 0,13$ g/l. Content of all whey proteins was statistically significantly affected by the lactation stage.

Klíčová slova: kobyší mléko, syrovátkové bílkoviny, laktace

Úvod

Mléko je považováno za jednu z nejkompexnějších potravin zcela přírodního původu ve výživě člověka. Mléko jako komplexní matrice je zdrojem významných makronutrientů (plnohodnotných mléčných bílkovin, lehce stravitelného tuku, sacharidů) a je také jedinečnou kombinací a zdrojem mikronutrientů (minerálních látek, vitaminů), přičemž některé složky mléka jsou specifické, v jiných potravinách se nevyskytují. Četné studie ukazují, že některé proteinové frakce mohou plnit specifickou fyziologickou nebo metabolickou úlohu v organismu (laktoferin, minoritní proteiny, biologicky aktivní peptidy aj.) a mohou příznivě ovlivňovat zdraví člověka (Hambræus, 1992).

Mléčné bílkoviny jsou považovány za excelentní zdroj esenciálních aminokyselin nepostradatelných pro výživu, růst a vývoj organismu člověka. Při nutričním hodnocení bílkovin se vychází kromě jiných hledisek ze zastoupení esenciálních aminokyselin. Bílkoviny mléka jsou plnohodnotnými bílkovinami. Soubor proteinů odstředěného mléka byl (spolu s ovoalbuminem) organizacemi FAO a WHO navržen jako standardní – referenční protein, vyznačující se optimálním složením esenciálních aminokyselin (Hajšlová a Velíšek, 2009). Z mléčných bílkovin jsou vysoce ceněny z hlediska nutričního i z hlediska jejich biologické úlohy syrovátkové bílkoviny (Samková a kol., 2012).

Kravske mléko sice zaujima první místo ve výživě člověka, v některých rozvojových zemích jsou však preferována mléka jiných druhů zvířat, vyznačující se specifickým složením i odlišnými vlastnostmi mléčných bílkovin v porovnání s mlékem kravským (Hambraeus, 1992). Kobyli mléko je složením proteinů více podobné mléku mateřskému. Procentuální podíl syrovátkových bílkovin je vyšší o 20 % než v kravském mléce, celkový obsah je až 40 % z celkového obsahu bílkovin, je však nižší než v mléce mateřském (více než 50 %) (Pieszka *et al.*, 2016). Zastoupení hlavních syrovátkových bílkovin je podobné jako v mléce kravském: β -laktoglobulin (β -LG), α -laktalbumin (α -LA), imunoglobuliny, sérový albumin (SA), laktoferin a lysozym (LYS). Na rozdíl od mateřského mléka podobně jako kravske mléko obsahuje β -LG. β -LG je hlavní syrovátkovou bílkovinou v kobyli mléce, tvoří až 30,7 % z celkového obsahu syrovátkových bílkovin. α -LA je druhou nejvíce obsaženou bílkovinou (28,5 %), následují imunoglobuliny (19,6 %), LYS (10,5 %), laktoferin (7,0 %) a SA (4,4 %) (Salimei a Fantuz, 2012).

Cílem práce bylo stanovení vybraných syrovátkových bílkovin α -laktalbuminu (α -LA), β -laktoglobulinu (β -LG), sérového albuminu (SA) a lysozymu (LYS) v individuálních vzorcích kobyliho mléka v období 6ti měsíců po ohřebení a sledování změn koncentrací těchto bílkovin v závislosti na stadiu laktace.

Materiál a metodika

Materiál

Individuální vzorky kobyliho mléka (n=42) byly získány od sedmi plemenných kobyli ohřebených v období března až květen. Vzorky byly odebírány ručním dojením po dobu 6ti měsíců laktace. Frekvence odběru vzorků byla 1x měsíčně.

Metodika

Stanovení proteinů metodou RP-HPLC

Mléko bylo odstředěno (3000 otáček/15 minut/5 °C), po odstředění byl z povrchu mechanicky odebrán tuk. 10 ml vzorku odtučněného mléka bylo za stálého míchání pozvolna vysráženo 10 % kyselinou octovou na hodnotu pH 4,2. Odstředěná syrovátka byla oddělena od kaseinu, přefiltrována přes nylonový membránový filtr (0,22 μ m) do vialek pro HPLC stanovení. Pro stanovení syrovátkových bílkovin byl použit kapalinový chromatograf Alliance 2695 (Waters, USA) s PDA 2996 detektorem (Waters, USA) a kolonou Poroshell 300SB-C8, 2,1x75 mm, 5 μ m. Mobilní fáze A obsahovala vodu/acetonitril/trifluoroctovou kyselinu (TFA) v poměru 95/5/0,1 (v/v/v) a mobilní fáze B vodu/acetonitril/TFA v poměru 5/95/0,1 (v/v/v). Bylo použito gradientové eluce a průtoku mobilní fáze 0,4 ml/min, teplota kolony 45 °C. Analyty byly detekovány při 205 nm. Velikost nástřiku byla 5 μ l.

Statistické hodnocení

Ke statistickému vyhodnocení dat byl použit statistický software Unistat verze 5.1 (Unistat LTD, Anglie).

Výsledky a diskuze

Průměrné hodnoty vybraných syrovátkových bílkovin za celé sledované období a v jednotlivých měsících laktace v individuálních vzorcích kobyliho mléka jsou uvedeny v tabulce č. 1.

Studie v souladu s literárními údaji (Salimei a Fantuz, 2012) potvrdila, že β -LG je hlavní syrovátkovou bílkovinou kobyliho mléka, jeho koncentrace byly nejvyšší ze sledovaných syrovátkových bílkovin, s velkými rozdíly mezi minimální a maximální

hodnotou 0,70 a 3,59 g/l. Statistická analýza dat ukázala statistický významný vliv laktace, hodnoty β -LG byly v 6. měsíci laktace statisticky významně nižší ($p < 0,05$), než v druhém měsíci laktace.

Druhou nejvíce zastoupenou syrovátkovou bílkovinou byl α -LA, jak je patrné z tabulky č. 1, s minimální a maximální naměřenou koncentrací 0,62 g/l a 3,02 g/l. Z tabulky je možné vyčíst, že k poklesu hodnot α -LA dochází od 3. měsíce laktace, nejnižší hodnota byla zaznamenána v 6. měsíci laktace. Tomu odpovídají i statisticky vysoce významné rozdíly ($p < 0,01$) mezi 6. měsícem laktace a 1. a 2. měsícem a statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$) mezi 6. měsícem a 3. a 4. měsícem laktace. Autoři Pecka *et al.* (2012) se ve své studii zaměřili na složení kobyliho mléka a stanovení vybraných proteinových frakcí. Ve vzorcích, které byly získány 2. den laktace (kolostrum) a ve třetím a šestém týdnu laktace, zjistili následující hodnoty α -LA: 9,3 g/l, 3,03 g/l a 2,91 g/l. Dle jejich názoru se koncentrace této syrovátkové bílkoviny s pokračující laktací zvyšují (kolostrum x mléko). Jejich studie však hodnotila změnu koncentrace α -LA v mléce ve srovnání s mlezivem a odběr vzorků byl ukončen ve 2. měsíci laktace. Průměrná hodnota v 6. týdnu laktace (2. měsíc – 2,91 g/l) byla vyšší, než průměrná hodnota stanovená v prezentované studii ve druhém měsíci ($2,55 \pm 0,34$ g/l).

Tabulka 1: Průměrné hodnoty syrovátkových bílkovin (g/l) za sledované období a v jednotlivých měsících laktace

Období	Syravátková bílkovina			
	α -laktalbumin	β -laktoglobulin	Sérum albumin	Lysozym
1-6 měsíc	$2,20 \pm 0,51$	$2,42 \pm 0,66$	$0,04 \pm 0,04$	$0,56 \pm 0,13$
1. měsíc	$2,56 \pm 0,33^{aAB}$	$2,70 \pm 0,41^{AB}$	$0,07 \pm 0,07^A$	$0,60 \pm 0,08^{aAB}$
2. měsíc	$2,55 \pm 0,34^{aAB}$	$2,77 \pm 0,50^A$	$0,05 \pm 0,04^{AB}$	$0,63 \pm 0,08^{aAB}$
3. měsíc	$2,29 \pm 0,39^{abA}$	$2,35 \pm 0,40^{AB}$	$0,03 \pm 0,03^{AB}$	$0,61 \pm 0,10^{aAB}$
4. měsíc	$2,22 \pm 0,48^{abA}$	$2,56 \pm 0,57^{AB}$	$0,02 \pm 0,02^B$	$0,58 \pm 0,11^{abA}$
5. měsíc	$2,02 \pm 0,26^{abAB}$	$2,36 \pm 0,66^{AB}$	$0,03 \pm 0,03^{AB}$	$0,55 \pm 0,11^{abA}$
6. měsíc	$1,58 \pm 0,54^{bB}$	$1,77 \pm 0,92^B$	$0,02 \pm 0,01^{AB}$	$0,37 \pm 0,15^{bB}$

a, b, c – aritmetické průměry ve stejném sloupci s různými písmeny se statisticky významně liší na úrovni $p < 0,01$; A, B, C – aritmetické průměry ve stejném sloupci s různými písmeny se statisticky významně liší na úrovni $p < 0,05$

Kobyli mléko je mnohem bohatší na lysozym než kravské a mateřské mléko. Průměrná hodnota LYS stanovená v naší studii je nižší než hodnota, kterou uvádějí ve studii Naert *et al.* (2013). Autoři se zaměřili na sledování vybraných složek ve směsných vzorcích kobyliho mléka získaných na 10 farmách v Belgii, průměrná hodnota lysozymu ve vzorcích byla $0,79 \pm 0,09$ g/l, koncentrace kolísaly v rozmezí hodnot 0,63 – 1,03 g/l. V prezentované studii koncentrace v individuálních vzorcích kolísaly v rozmezí hodnot 0,17 – 0,78 g/l. Byl zjištěn statisticky významný vliv stadia laktace na koncentrace lysozymu. V první polovině sledovaného období (1. – 3. měsíc) byly koncentrace přibližně na stejné úrovni, pokles byl patrný od 4. měsíce. Nejnižší hodnota byla naměřena v 6. měsíci. Koncentrace lysozymu byla statisticky vysoce významně nižší ($p < 0,01$) v 6. měsíci laktace než v 1., 2. a 3. měsíci a statisticky významně nižší ($p < 0,05$) než v měsících 4. a 5.

Podíl SA na celkovém obsahu syrovátkových bílkovin je podle literárních údajů ve srovnání s kravským a mateřským mlékem nejnižší. Průměrná koncentrace SA byla nižší než koncentrace lysozymu a kolísala v poměrně širokém rozmezí hodnot 0,007 – 0,205 g/l. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána v 1. měsíci laktace, následně docházelo ke snížení hodnot. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) mezi 1. a 4. měsícem laktace.

Závěr

V individuálních vzorcích kobyliho mléka získaných během prvních 6ti měsíců laktace byly kvantitativně stanoveny vybrané syrovátkové bílkoviny (α -laktalbumin, β -laktoglobulin, sérový albumin a lysozym) metodou RP-HPLC. Studie potvrdila, že nejvíce zastoupenou syrovátkovou bílkovinou kobyliho mléka byl β -laktoglobulin ($2,42 \pm 0,66$ g/l), druhou nejvíce zastoupenou byl α -laktalbumin ($2,20 \pm 0,51$ g/l). Průměrná koncentrace lysozymu za sledované období byla $0,56 \pm 0,13$ g/l a sérového albuminu $0,04 \pm 0,04$ g/l. Byl zjištěn statisticky významný vliv stadia laktace na koncentrace syrovátkových bílkovin v kobyliím mléce.

Literatura

Hambraeus, L. Nutritional aspects of milk proteins. In: Fox P.F. (ed.) *Advanced dairy chemistry, Volume 1, Proteins*. London: Elsevier Applied Science. 1992, p. 457-490. ISBN 1-85166-761-X.

Naert, L., Vande vyvere, B., Verhoeven, G., Duchateau, L., De Smet, S., Coopman, F. Assessing heterogeneity of the composition of mare's milk in Flanders. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 2013, vol. 82, p. 23-30.

Pecka, E., Dobrzański, Z., Zachwieja, A., Szulc, T., Czyż, K. Studies of composition and major protein level in milk and colostrum of mares. *Animal Science Journal*, 2012, vol. 83, p. 162-168.

Pieszka, M., Łuszczynski, J., Zamachowska, M., Augustyn, R., Długosz, B., Hędrzak, M.: Is mare milk an appropriate food for people? – A review. *Annals of Animal Science* 2016, vol. 16, p. 33-51.

Salimei, E., Fantuz, F. Equid milk for human consumption. *International Dairy Journal* 2012, vol. 24, p. 130-142.

Samková, E. *Mléko: produkce a kvalita*. 1. vyd., České Budějovice: JU ZF, 2012, s. 39-45. ISBN 978-80-7394-383-7.

Velíšek J., Hajšlová J. *Food Chemistry*. 3. vydání. Tábor: Osis, Česká republika. 2009, s. 44-45. ISBN 978-80-86659-15-2.

Poděkování

Práce vznikla za finanční podpory projektu IGA VFU Brno 203/2016/FVHE. Poděkování patří studentce Bc. Simoně Horákové za zajištění odběru vzorků kobyliho mléka a studentkám Kubíkové T. a Iwanuszkové J. za pomoc při laboratorní analýze vzorků.

Kontaktní adresa

MVDr. Pavlína Navrátilová, Ph.D., VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie mléka, Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno, e-mail: navratilovap@vfu.cz

Údržnost pasterovaných vaječných melanží z pohledu použitých konzervantů

Effect of preservatives on the shelf-life of pasteurised liquid whole egg

Necidová, L.¹, Bursová, Š.¹, Haruštiaková, D.², Vorlová, L.¹

¹Veterinární a farmaceutická univerzita Brno; ²Masarykova univerzita Brno

Souhrn

Studie byla zaměřena na hodnocení účinku tradičních konzervantů (benzoan-sorban a fosforečnany) a alternativních konzervantů (nisin, Laktocid, Defence JB a Galimax Flavor V50) na mikrobiologickou kvalitu pasterovaných vaječných melanží. Vzorky melanží s přísadky testovaných konzervantů byly (včetně kontroly tj. melanže bez konzervantů) připraveny výrobcem a skladovány při 4 °C po dobu 45 dnů. Analýzy jednotlivých vzorků byly prováděny 1., 15., 22., 29., 36. a 45. den skladování. U všech vzorků byl stanoven celkový počet mikroorganismů (CPM), počet bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*, bakterií mléčného kvašení (BMK) a počet kvasinek a plísní. K porovnání počtu bakterií v čase, resp. na konci skladování byla použita jednofaktorová a vícefaktorová analýza rozptylu (ANOVA) následovaná Tuckeyho testem mnohonásobného porovnání. Na konci skladování (45. den) byly zaznamenány nejnižší hodnoty CPM u vzorků konzervovaných směsí benzoan-sorban a Laktocidem. Nejnižší počty BMK byly u vzorků s konzervanty benzoan-sorban, fosforečnany, nisin a Laktocid. Z pohledu mikrobiologické kvality pasterovaných vaječných melanží se jako nejlepší konzervant z kategorie alternativních přípravků jeví Laktocid.

Abstract

The present study focused on the effect of traditional (benzoate-sorbate and triphosphates) and alternative (nisin, Lactocid, Defence JB, and Galimax Flavor V50) food preservatives on the microbiological quality of pasteurised liquid whole eggs (LWE). The LWE samples with the addition of a test preservative and a control, prepared by the producer, were stored at 4 °C for 45 days. The analysis of individual samples was carried out on days 1, 15, 22, 29, 36, and 45 of storage. The following microbiological indicators total plate count – TPC, *Enterobacteriaceae*, mesophilic lactic acid bacteria – LAB, and yeast and mould counts were determined. The results were statistically analysed by means of factorial ANOVA and one-way ANOVA, followed by the Tuckey post hoc test. TPCs at the end of storage differed significantly, being the lowest in LWE samples added with benzoate-sorbate and Lactocid. Selected preservatives affected the amount of LAB differently over time. The final counts on day 45 were lower in the samples with benzoate-sorbate, triphosphates, nisin, and Lactocid. Finally, Lactocid showed great potential as a preservative of LWE.

Klíčová slova: celkový počet mikroorganismů; bakterie mléčného kvašení; nisin; organické kyseliny; benzoan-sorban

Úvod

Vejce zaujímají nezastupitelné místo v lidské výživě, a to nejen vzhledem ke svému jedinečnému obsahu minerálů, vitaminů, mastných kyselin a proteinů. Zvláště v posledních letech preferuje potravinářský průmysl používání pasterovaných vaječných melanží, bílků nebo žloutků (Ratu et al., 2017). Díky pasteraci vaječných obsahů seredukují počty bakterií

a tím se prodlužuje jejich údržnost (Nistor et al., 2016). Seznam potravinových aditiv schválených pro použití u potravin, včetně konzervantů a podmínek jejich použití, jsou uvedeny v Nařízení Komise (ES) č. 1129/2011. Výrobci pasterovaných vaječných obsahů jsou často konfrontováni s požadavky odběratelů používat jiné než klasické chemické metody stabilizace, tato skutečnost je nutí zaměřit se např. na alternativní konzervační prostředky.

Materiál a metodika

Vzorky pasterovaných vaječných melanží (PVM) s přídavkem konzervantů byly připraveny u výrobce v ČR. Pasterace proběhla při 65 °C po dobu 3,5 min. s následným okamžitým zchlazením na 2–3 °C. Vzorky byly převezeny v chladicím boxu do laboratoře a zde uchovávány při 4 °C po dobu 45 dnů. Přehled šesti použitých konzervantů je uveden v Tabulce 1. Pro každý testovaný konzervant bylo vždy připraveno pět paralelních řad vzorků. Jako kontrola sloužil vzorek bez konzervantů (opět 5 paralelních řad). Mikrobiologické vyšetření PVM bylo prováděno 1., 15., 22., 29., 36. a 45. den skladování. Pro každý termín analýz bylo tedy vyšetřeno 35 vzorků.

U vzorků byly stanoveny následující mikrobiologické ukazatele: celkový počet mikroorganismů (CPM) – dle ČSN EN ISO 4833-1:2014, počet bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* – dle ČSN EN ISO 21528-2:2006, počet mezofilních bakterií mléčného kvašení (BMK) – dle ČSN EN ISO 15214:2000, počet kvasinek a plísní – dle ČSN EN ISO 21527-1:2009.

Zjištěné počty KTJ.g⁻¹ byly převedeny na dekadický logaritmus, byl stanoven průměr a směrodatná odchylka. K porovnání počtu bakterií v čase, resp. na konci skladování byla použita jednofaktorová a vícefaktorová analýza rozptylu (ANOVA) následovaná Tuckeyho testem mnohonásobného porovnání.

Tabulka 1: Konzervanty použité pro zajištění údržnosti PVM

Konzervant	Složení, E kód	Finální koncentrace* [g na kg PVM]	Dodavatel
Benzoan-sorban	benzoan sodný E211 a sorban draselný E202	2 + 2,5	Hages Ltd, Rudná u Prahy, ČR
Fosforečnany	trifosforečnan sodný E451i	10	Hubka-Petrášek and grandsons Ltd, Praha, ČR
Nisin	Nisin E234	0,25	Barentz Czech Republic, Klatovy, ČR
Laktocid	směs kyseliny mléčné E270, kys. octové E260, a měčnanu sodného E325	20	Zeelandia Ltd, Malšice, ČR
Defence JB	produkty fermentace startovacích mikrobiálních kultur BMK a kvasinek	2	Novali JSC, Hluboká nad Vltavou, ČR
Galimax Flavor V50	ocet slabě pufovaný sodou	14	Barentz, Klatovy, ČR

*finální koncentrace konzervantu byla zvolena výrobcem

Výsledky a diskuze

Počáteční hodnoty CPM testovaných vzorků nepřesáhly 3 log KTJ.g⁻¹ (Obr. 1), což odpovídá běžné úrovni kontaminace PVM (Fernandes, 2009; Miller et al., 2010). V případě CPM byly na konci doby skladování (45. den) zaznamenány nejnižší hodnoty u vzorků konzervovaných směsí benzoan-sorban a Laktocidem (ANOVA, P < 0.001; Obr. 1). Počty BMK se na počátku studie pohybovaly v rozmezí 0,83 ± 1,14 až 2,38 ± 0,53 log KTJ. g⁻¹ (Obr. 2). Výsledky Millera et al. (2010) uvádí, že průměrné počty BMK u PVM českých výrobců byly 1,9 ± 0,6 log KTJ.g⁻¹. Z Grafu 2 je patrné, že nejnižší počty BMK byly 45. den u vzorků s konzervanty benzoan-sorban, fosforečnany, nisin a Laktocid (ANOVA, P < 0.001). Někteří autoři uvádí, že kyselina sorbová a benzoová nebyly příliš účinné při potlačení růstu BMK (Matsuda et al., 1994; Míková et al., 2003), což výsledky naší studie nepotvrzují. Fialová et al. (2008) studovali účinky Laktocidu v potravinách na bázi majonézy a potvrdili jeho vliv na potlačení růstu laktobacilů a tím prodloužení údržnosti uvedených potravin.

V případě kvasinek setrvaly počty po celou dobu skladování PVM na minimálních hodnotách včetně kontrolního vzorku bez konzervantů (Obr. 3). Počty plísní se lišili v závislosti na čase, nikoliv na přítomnosti nebo druhu použitého konzervantu (vícefaktorová ANOVA, konzervant: P = 0.010, čas: P < 0.001, čas*konzervant P = 0.460; Obr. 4). Podrobná analýza počtu kvasinek i plísní na konci sledování nepotvrdila rozdíly mezi vzorky s různými konzervanty (kvasinky: ANOVA, P = 0.066, plísně: ANOVA, P = 0.270). Gram-negativní bakterie včetně bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* kontaminují poměrně často PVM (Németh et al., 2011), ale zároveň mohou být relativně snadno inaktivovány tepelným opracováním (Miller et al., 2010). V naší studii dosahovaly počty *Enterobacteriaceae* po celou dobu hodnot < 1 log cfu.g⁻¹, byly tedy pod detekčním limitem použité plotnové metody, což znamená, že pasterace za výše uvedených podmínek byla k devitalizaci bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* dostatečná.

Závěr

Výsledky této studie mají pomoci výrobcům při volbě nejúčinnějšího konzervantu při zajištění údržnosti PVM. Vliv testovaných konzervantů na potlačení růstu a množení mikroorganismů byl zaznamenán pouze v případě CPM a BMK, nikoliv u kvasinek a plísní. Jako nejúčinnější konzervant byl vyhodnocen benzoan-sorban a Laktocid (směs kyseliny mléčné a octové). Při snaze využít k prodloužení údržnosti PVM konzervanty alternativní, lze doporučit Laktocid.

Literatura

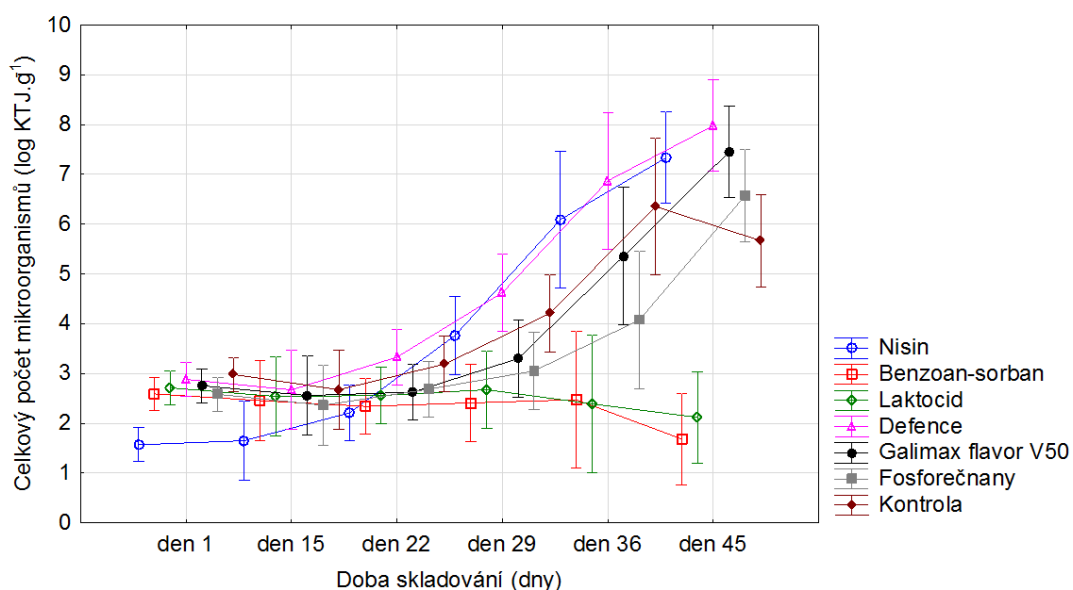
Literatura je k dispozici u autorů nebo na posteru prezentovaném na konferenci.

Poděkování

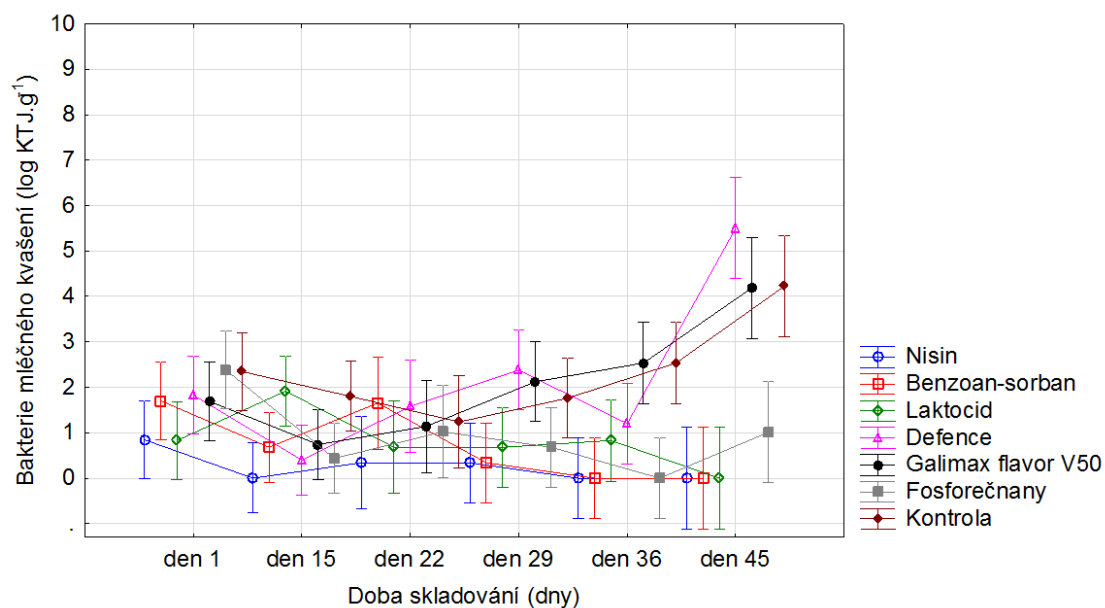
Práce vznikla za finanční podpory IGA VFU Brno č. 212/2017/FVHE.

Kontaktní adresa

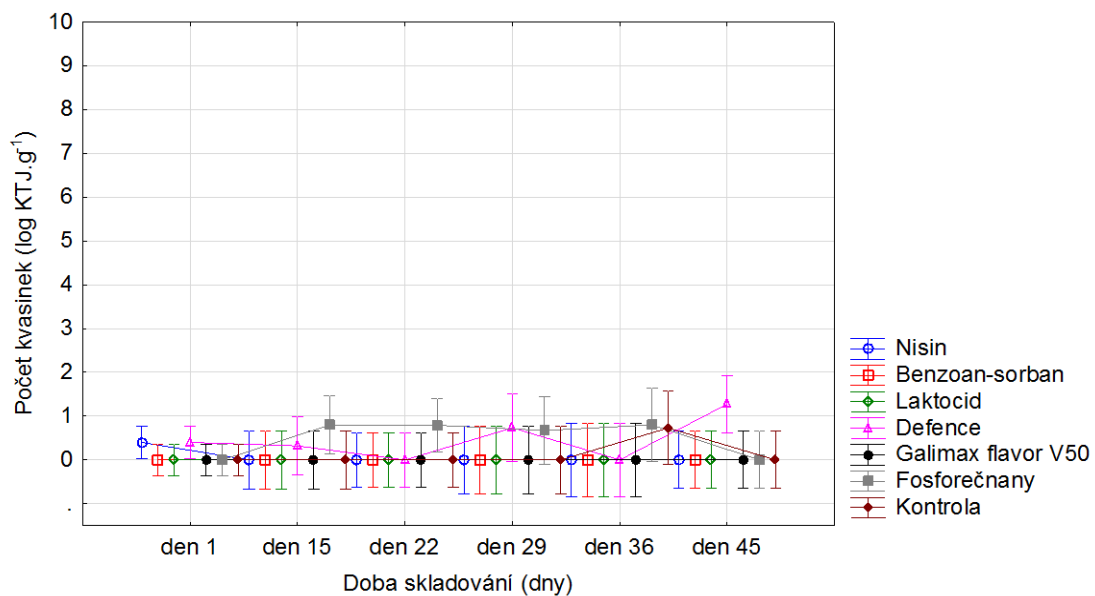
MVDr. Lenka Necidová, Ph.D., Ústav hygieny a technologie mléka, FVHE VFU Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, e-mail: necidoval@vfu.cz



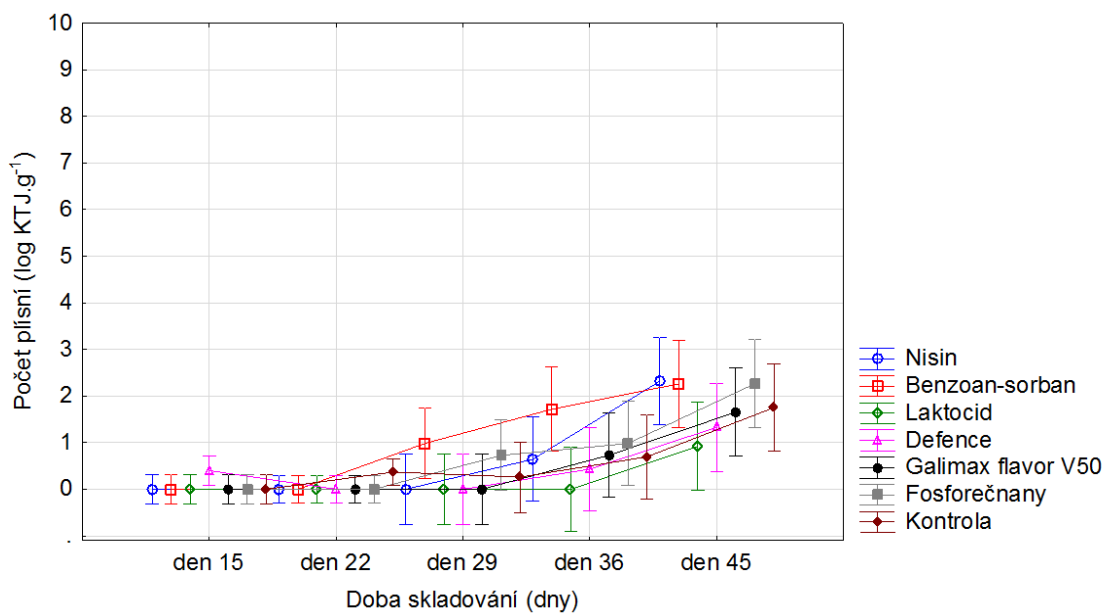
Obr. 1: Celkový počet mikroorganismů (log KTJ.g⁻¹) u pasterovaných vaječných melanží s různými konzervanty



Obr. 2: Počet mezofilních bakterií mléčného kvašení (log KTJ.g⁻¹) u pasterovaných vaječných melanží s různými konzervanty



Obr. 3: Počet kvasinek (log KTJ.g⁻¹) u pasterovaných vaječných melanží s různými konzervanty



Obr. 4: Počet plísní (log KTJ.g⁻¹) u pasterovaných vaječných melanží s různými konzervanty

Rtuť v potravinách z pohledu legislativy

Mercury in food from the point of view of legislation

Novotná, K.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

S ohledem na negativní účinky těžkých kovů, včetně sloučenin rtuti, bylo v určitých potravinách stanoveno maximální množství kovů, které může potravinu při uvádění do oběhu obsahovat. Limity v potravinách ve vybraných druzích potravin byly historicky v průběhu let postupně v předpisech upravovány. V současnosti je v České republice platné nařízení komise č. 1881/2006 ve znění nařízení č. 629/2008, které stanovuje přípustný limit množství rtuti v produktech rybolovu 0,5 mg.kg⁻¹, v případě vybraných (zejména dravých) druhů (např. štika) je stanoven limit rtuti 1,0 mg.kg⁻¹. Pokud potravinu nesplňuje požadavky na maximální přípustné množství kontaminujících látek, neměla by být uváděna na trh. Dodržování těchto povinností kontroluje věcně a místně příslušný dozorový orgán.

Abstract

In view of the negative effects of heavy metals, including mercury compounds, the maximum amount of metals that a food can contain when placed in the market has been determined in certain foods. The amount and selected types of food have been historically regulated over the years. Currently, the Commission Regulation No. 1881/2006, as amended, is in force in the Czech Republic. No 629/2008, which establishes an acceptable maximum limit of mercury in fishery products of 0.5 mg.kg⁻¹, the mercury limit of 1.0 mg.kg⁻¹ is set for selected (especially predatory) species (eg pike). If a food does not meet the maximum permitted amount of contaminants, it should not be marketed. Observance of these duties shall be checked by the competent and the local authority.

Klíčová slova: *předpisy, těžké kovy, limit v potravinách*

Úvod

Rtuť a její sloučeniny patří mezi známé toxické látky, které se vlivem přirozeného odpařování rtuti ze zemské kůry a oceánů, vulkanické aktivity, těžby (např. Středozeří, Jižní a Východní Asie) a antropogenní činnosti (okolo 10000 tun / rok), včetně spalování uhlí a použití rtuti v pesticidech (např. fungicidy) dostávají do životního prostředí (Ruprich et al., 2004). Vzhledem k dálkovému přenosu se týká problematika rtuti všech zemí a proto je nutné její emise snižovat, k čemuž se 60 států včetně Evropské unie jako celek zavázalo v tzv. Minamatské úmluvě (Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/852 ze dne 17. května 2017 o rtuti a o zrušení nařízení (ES) č. 1102/2008 - dále jen Úmluva). Tato ve spojitosti z obav o zdraví (zejména v rozvojových zemích), které vyvolává expozice rtuti u zranitelných populací, zvláště pak žen, dětí a tím i budoucích generací a zejména po ponaučení z nemoci Minamata vyslovuje potřebu zajistit správné nakládání se rtutí a zabránit v budoucnu takovým událostem (Úmluva). Česká republika je smluvní stranou Úmluvy od 19. června 2017 a na základě čl. 31 pro ni vstupuje v platnost dnem 17. září 2017. Obsahuje opatření týkající se ukončování těžby rtuti, omezování použití rtuti ve výrobcích a výrobních

procesech, kontroly emisí do ovzduší a úniků do vody a půdy a regulace těžby a zpracování zlata pomocí amalgamace.

Podle Sallstena et al. (1996) je lidská populace nejvíce vystavena expozici rtuťi ze dvou zdrojů: konzumace ryb a dalších vodních živočichů a uvolňování elementární rtuťi z amalgámových zubních výplní. Dle Stanoviska vědeckého výboru pro potraviny (Ruprich et al., 2004) ve věci methylrtuťi v rybách a rybích výrobcích z roku 2004 může být rtuť stanovena v různých druzích potravin, od $5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ pro mléko a mléčné výrobky a pro ovoce, přes $10 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ pro zeleninu, cereálie a maso až po $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ pro ryby a mořské živočichy. Dále se zde uvádí, že množství obsahu rtuťi v potravinách na trhu v ČR je dobře patrný z výsledků monitoringu dietární expozice člověka z programu Ministerstva zemědělství. Pro roky 1999 – 2003 je k dispozici 1852 výsledků, z nichž 1005 je vyšší než mez kvantifikace ($\text{LoQ}=0,01-0,2 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). Rozmezí nalézaných hodnot pro jednotlivé druhy potravin je poměrně úzký a význam má jen u následujících skupin potravin: mořské ryby, sladkovodní ryby, uzené ryby, marinované ryby, konzervované ryby a rybí saláty. Z dalších potravin lze pozorovat závažnější nálezy jen u koření a jater. Obsah rtuťi v ostatních potravinách je podstatně nižší (tisíciny $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). Vzhledem k nebezpečí expozice rtuťi z potravin stanovila řada zemí limity pro obsah rtuťi v potravinách. Limit je z praktických důvodů stanoven výhradně jen pro celkovou rtuť.

Předpisy České republiky

Při uvádění potravin na trh se musí provozovatel potravinářského podniku řídit platnými právními předpisy, které se této činnosti týkají. Stěžejním právním aktem je Zákon o potravinách a tabákových výrobcích č. 110 z roku 1997 (zákon o potravinách), který nabyl účinnosti dne 1. září 1997. Do současnosti prošel tento zákon celkem 30 novelizacemi. Z pohledu rtuťi v potravinách je zásadní paragraf tři, který určuje pro provozovatele potravinářského podniku mimo jiné povinnost dodržovat požadavky pro druhy a přípustná množství toxikologicky významných látek v potravinách. V minulosti byla tato přípustná množství uvedena ve vyhlášce ministerstva zdravotnictví č. 298/1997 Sb., kterou se stanoví chemické požadavky na zdravotní nezávadnost jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin. Tato taxativně stanovovala v příloze množství a druhy látek přídatných, kontaminujících, toxikologicky významných. V roce 2002 byla tato zrušena a nahrazena vyhláškou 53/2002 Sb., kde se v paragrafu dva uvádí, že potraviny a potravinové suroviny, které obsahují vyšší než nejvyšší povolené množství látek, nelze uvádět do oběhu. Limity pro kontaminující látky, toxikologicky významné látky a látky vznikající činností mikroorganismů stanovila příloha č. 2 této vyhlášky, kde v části 10 byly přidány další konkrétní druhy potravin a nejvyšší přípustné množství rtuťi v nich. V novelizaci v případě limitu pro rtuť byla pozornost zaměřena zejména na dravé druhy ryb jako produktů rybolovu a výrobků z nich a byl pro tyto druhy stanoven benevolentnější limit obsahu rtuťi $1,0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Ještě v téže roce byla vyhláška upravena předpisem č. 233, který se ale obsahu rtuťi nedotkl. Následně po vstupu České republiky do Evropské unie byla vyhláška č. 53/2002 Sb. definitivně k 20. květnu 2004 zrušena. Od té doby není v českých právních aktech stanoven limit rtuťi pro potraviny, což neznamená, že obsah rtuťi v potravinách uváděných na trh v České republice není limitem zatížen legislativními pravidly Evropské unie.

Předpisy Evropské Unie

Problematiku rtuti v potravinách nebere EU na lehkou váhu a v přímo použitelných nařízeních stanovuje pravidla pro ochranu veřejného zdraví, kdy v tomto zájmu je nezbytné udržet množství kontaminujících látek na toxikologicky přijatelných úrovních. Evropský úřad pro bezpečnost potravin dospěl k závěru, že obsah rtuti v jiných potravinách, než jsou ryby a produkty rybolovu, působí z hlediska zdraví menší obavy. V potravinách s výjimkou ryb a produktů rybolovu se rtuť vyskytuje především v jiných formách než methylrtuť, přičemž tyto jiné formy rtuti jsou považovány za méně rizikové (nařízení Evropského parlamentu a Komise (ES) č. 466/2001).

Česká republika se vstupem do Evropské unie v roce 2004 zavázala dodržovat právní ustanovení vydané komisí evropského společenství. Při vstupu ČR do EU bylo v platnosti nařízení (ES) č. 466/2001 ze dne 8. března 2001, kterým se stanovily maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. Produkty rybolovu uváděné do tržní sítě nesmí obsahovat více jak 0,5 mg.kg⁻¹ rtuti stanovené v jedlém podílu čerstvé tkáně. Pro vybrané druhy byl akceptován limit 1,0 mg.kg⁻¹. Postupem času bylo nutno změnit maximální limity některých kontaminujících látek, aby byly zohledněny nové informace a vývoj v *Codex Alimentarius*, a tak platnost tohoto právního aktu skončila k 28. únoru roku 2007. Nahradilo jej nařízení 1881 z 19. prosince roku 2006, kde se v článku jedna se uvádí, že potraviny uvedené v příloze se neuvedou na trh, pokud obsahují některou kontaminující látku uvedenou v příloze v množství, jež přesahuje maximální limit stanovený přílohou. Limity stanovené se v příloze se uplatní na jedlou část dané potraviny, nestanoví-li uvedená příloha jinak. Pro produkty rybolovu zůstává limit 0,5 mg.kg⁻¹, přičemž k tomuto limitu byla přidána svalovina ryb obecně a ustanovení, že maximální limit se vztahuje na korýše kromě hnědého krabiho masa a kromě masa z hlavy a hrudi humra a podobných velkých korýšů (*Nephropidae* a *Palinuridae*). Pro druhy uvedené v bodě 3.3.2 se povoluje 1,0 mg.kg⁻¹ (nařízení č. 1881/2006). Na začátku července 2008 vydala komise nařízení č. 629/2008, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006. Co se týká stanovených limitů pro produkty rybolovu, tak zůstaly stejné, ale byly změněny přidány některé další druhy ryb, na které se daný limit vztahuje. Taxativně vyjmenované druhy ryb u jednotlivých právních aktů jsou uvedeny v tab. 1.

Tabulka 1: Vybrané druhy ryb, pro které oplatí limit rtuti 1,0 mg.kg⁻¹ v jednotlivých právních předpisech.

Taxativně vyjmenované druhy ryb	+ další druhy ryb u těchto předpisů		
	Vyhl. č. 53/2002 Sb., Nař. (ES) č. 466/2001, č. 1881/2006, č. 629/2008	Vyhl. č. 53/2002 Sb., Nař. (ES) č. 466/2001	Nař. (ES) č. 1881/2006, č. 29/2008
ďas mořský (<i>Lophius spp.</i>), atlantická sumcovitá ryba (<i>Anarhichas lupus</i>), makrelovité ryby (<i>Sarda spp.</i>), úhoř (<i>Anguilla spp.</i>), platýs obrovský (<i>Hippoglossus hippoglossus</i>), malý tuňák (<i>Euthynnus spp.</i>), tuňák (<i>Thunnus spp.</i>), druh <i>Makaira spp.</i> , štika (<i>Esox lucius</i>), makrelovitý druh <i>Orcynopsis unicolor</i> , portugalská máčeka skvrnitá (<i>Centroscymnes coelolepis</i>), rejnoci (<i>Raja spp.</i>), losos (<i>Sebastes marinus</i> , <i>S. Mentella</i> , <i>S. viviparus</i>), plachetník (<i>Istiophorus platypterus</i>), šupinoploutvec (<i>Lepidopus caudatus</i> , <i>Aphanopus carbo</i>), žralok (všechny druhy), druh makrelovitých <i>Lepidocybium flavobrunneum</i> a <i>Ruvettus pretiosus</i> <i>Gempylus serpens</i> , jeseter (<i>Acipenser spp.</i>), mečoun <i>Xiphias gladius</i>)	morčák evropský (<i>Dicentrarchus labrax</i>), mník modrý (<i>Molva dipterygia</i>)	ryby druhu <i>Hoplostethus</i> , hlavoun tuponosý (<i>Coryphaenoides rupestris</i>), pakambala (<i>Lepidorhombus spp.</i>) parmice (<i>Mullus spp.</i>), treska (<i>Trisopterus minutus</i>), růžichy (<i>Pagellus spp.</i>),	hruj kapská (<i>Genypterus capensis</i>) a černá (<i>Genypterus blacodes</i>)

Přibyl však další limit pro rtuť a to konkrétně pro doplňky stravy, kde se povoluje maximální množství rtuti $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$. Tento limit se vztahuje na doplňky stravy uváděné na trh a nabízené jako potraviny a dodávané konečnému spotřebiteli pouze balené. Co se rozumí doplňkem stravy je definováno v článku dva směrnice Evropského parlamentu a Rady 2002/46/ES ze dne 10. června 2002. Doplňky stravy jsou potraviny, jejichž účelem je doplňovat běžnou stravu a které jsou koncentrovanými zdroji živin nebo jiných látek s výživovým nebo fyziologickým účinkem, samostatně nebo v kombinaci, jsou uváděny na trh ve formě dávek, a to ve formě tobolek, pastilek, tablet, pilulek a v jiných podobných formách, dále ve formě sypké, jako kapalina v ampulích, v lahvičkách s kapátkem a v jiných podobných formách kapalných nebo sypkých výrobků určených k příjmu v malých odměřených množstvích.

Závěr

Rtuť v potravinách je stále nebezpečím, které musí být sledováno a kontrolováno. V současné době platí pro uvádění potravin na trh v rámci EU limit pro produkty rybolovu a svalovinu ryb $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ a pro vybrané druhy ryb $1,0 \text{ mg.kg}^{-1}$; zvláštní limit ($0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$) rtuti mají pak doplňky stravy.

Literatura

Sallsten, G., Thoren, J., Barregard, L., Schutz, A., Skarping, G., Long-term use of nicotine chewing gum and mercury exposure from dental amalgam fillings. *Journal of Dental Research*, 1996. 75:594-598.

Ruprich, J., Řehůrková, I., Drápal, J., Kozáková, M., 2004. Methylertuť v rybách a rybích výrobcích. Stanovisko vědeckého výboru pro potraviny, 2004. Státní zdravotní ústav. http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Kvasnickova/MeHg_1.pdf.

[cit. 31-07-2018].

Česká republika. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 53/2002 Sb., kterou se stanoví chemické požadavky na zdravotní nezávadnost jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin, podmínky použití látek přídatných, pomocných a potravních doplňků ve znění č. 110 a č. 306/2004. In: Sbíрка zákonů, č. 22., s. 866-984.

Česká republika. Zákon č. 110/1997 Sb., ze dne 24. dubna 1997 o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů. In: Sbíрка zákonů, 1997, č. 38, s. 2178.

Evropská unie: Nařízení komise (ES) č. 466/2001 ze dne 8. března 2001, kterým se stanovily maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. In: Úřední věstník Evropské unie L77/1, 16/3/2001, s. 64-76.

Evropská Unie: Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/852 ze dne 17. května 2017 o rtuti a o zrušení nařízení (ES) č. 1102/2008. In: úřední věstník Evropské Unie L 137/1-L 137/21, 24/5/2017.

Evropská unie: Směrnice evropského parlamentu a rady 2002/46/ES ze dne 10. června 2002 o sblížení právních předpisů členských států týkajících se doplňků stravy. In: Úřední věstník Evropské unie L183/51, 12/7/2002, s. 490-497.

Evropská unie: Nařízení komise (ES) č. 1881/2006 ze dne ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. In: Úřední věstník Evropské unie L364/5, 20/12/2006.

Evropská unie: Nařízení komise (ES) č. 629/2008 ze dne 2. července 2008, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. In: Úřední věstník Evropské unie L173/16, 3/7/2008.

Kontaktní adresa

Ing. Kamila Novotná Kružíková, Ph.D., VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav veřejného a soudního veterinárního lékařství, Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno, e-mail: novotnak@vfu.cz

Legislativní úprava uvádění hmyzu jako potravin na trh *Legislative regulation of placing insects on the market as food*

Novotná, K., Vošmerová, P.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Hmyz splňuje od 1. ledna 2018 požadavky na „novou potravinu“ a jako potravinu ji lze uvádět na trh za splnění legislativních předpisů Evropské Unie, tedy po získání povolení v rámci povolovacího řízení pro nové potraviny a po zapsání do seznamu nových potravin Unie. Do 1. ledna 2020 platí přechodné období, kdy se druhy hmyzu uváděné na trh EU před 1. lednem 2018 dle národních výjimek mohou uvádět na trh. Patří mezi ně například cvrček domácí, saranče stěhovavá či potěmník moučný.

Abstract

Since January 1, 2018, the insect meets the requirements for a "novel food" and as a food it can be marketed to comply with European Union legislation, ie after obtaining authorization under the authorization procedure for novel foods and after entering the Union list of novel foods. By 1 January 2020, a transitional period shall apply whereby insect species placed on the EU market before 1 January 2018 subject to national exemptions may be marketed. These include, for example, a domestic cricket, a locust beetle or a flour beetle.

Klíčová slova: *předpisy, nová potravina, cvrček domácí, saranče stěhovavá, potěmník moučný*

Úvod

Hmyzí pochoutky se dostávají ke konzumentům na talíř stále častěji, ale problematika hmyzu jako potravin nebyla z právního hlediska v rámci Evropské unie před 1. lednem 2018 jednoznačná. Většina členských zemí EU (včetně České republiky) se přiklání k názoru Evropské komise, že hmyz byl neschválenou novou potravinou podle tenkrát platného nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 258/1997 ze dne 27. ledna 1997

o nových potravinách a nových složkách potravin a nemohl se jako potravina uvádět na trh. Několik zemí hmyz za novou potravinu nepovažovalo a tak mohl být hmyz na základě národních předpisů konkrétní země uváděn na trh. Situaci vyřešilo nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/2283 ze dne 25. listopadu 2015 o nových potravinách, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 a o zrušení nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 258/97 a nařízení Komise (ES) č. 1852/2001 (dále nařízení o nových potravinách), kde se konkrétně ve článku tři novými potravinami rozumí jakékoliv potraviny, které se ve významné míře nepoužívaly k lidské spotřebě v Unii před 15. květnem 1997, bez ohledu na den přistoupení členských států k Unii, a které spadají alespoň do jedné z kategorií uvedených v tomto nařízení v článku tři, v bodě dva písmene a) podbod i) až x). Podle tohoto nařízení musí potraviny, které splňují definici nové potraviny, projít tzv. povolovacím řízením pro nové potraviny a být zapsány na seznam Unie, který je uveden v příloze prováděcího nařízení Komise (EU) 2017/2470 ze dne 20. prosince 2017, kterým se zřizuje seznam Unie pro nové potraviny v souladu s nařízením Evropského

parlamentu a Rady (EU) 2015/2283 o nových potravinách. Pouze nové potraviny povolené a zařazené na Seznamu Unie smějí být jako takové uváděny na trh v Unii nebo používány v potravinách nebo na jejich povrchu v souladu s podmínkami použití v něm uvedeny. Nové potraviny jsou uvedeny na seznam Unie tehdy, pokud splňují podmínky ze článku sedm, tedy když na základě dostupných vědeckých důkazů nepředstavuje uvedená potravina žádné bezpečnostní riziko pro lidské zdraví, když zamýšlené použití uvedené potraviny neuvádí spotřebitele v omyl a pokud je potravina určena k tomu, aby nahradila jinou potravinu, nesmí se odlišovat od uvedené potraviny tak, aby její běžná spotřeba byla pro spotřebitele z hlediska výživy méně prospěšná (nařízení o nových potravinách).

Nařízení o nových potravinách dále také určuje povolovací proces, kterým se stanoví obecná pravidla pro povolovací řízení pro účely povolení nové potraviny na trh či aktualizace seznamu Unie, stanovisko úřadu a samotné povolení nových potravin. Současně toto nařízení dále stanovuje přechodná opatření pro potraviny, na které se nevztahuje nařízení (ES) č. 258/1997, jež byly v souladu s předpisy uvedeny na trh k 1. lednu 2018 a na něž se vztahuje působnost nařízení o nových potravinách, mohou být nadále uváděny na trh do té doby, než je v souladu s povolovacím řízením pro nové potraviny přijato rozhodnutí o povolení nové potraviny nebo oznámení o tradiční potravine. Přechodné období bylo stanoveno do 1. ledna 2020 (Nařízení o nových potravinách). Od platnosti této právní listiny mají tedy provozovatelé potravinářských podniků dva roky na zapsání nové potraviny na seznam Unie. V článku 29 se stanovuje, že samotné členské státy stanoví pravidla pro sankce za porušení ustanovení nařízení o nových potravinách a přijmou veškerá opatření nezbytná pro zajištění jejich uplatňování (nařízení o nových potravinách).

Hmyz a „nová potravina“

Hmyz jednoznačně splňuje definici nové potraviny, protože spadá do kategorie uvedené v nařízení o nových potravinách v bodě v), kde se hovoří o potravinách, které sestávají z těl živočichů nebo jejich částí, jsou z nich izolovány nebo vyrobeny, s výjimkou živočichů získaných tradičními chovatelskými postupy používanými k produkci potravin před 15. květnem 1997, mají-li potraviny z těl těchto živočichů historii bezpečného používání jako potraviny v Unii. Hmyzí produkty totiž nebyly tradiční součástí jídelníčku obyvatel EU před 15. květnem 1997. Podle nařízení o nových potravinách mohou být nové potraviny uváděny na trh, pokud jsou zapsány na seznam Unie. Hmyz v seznamu Unie uveden není a pro uvádění na trh musí každý druh hmyzu tedy projít povolovacím řízením pro nové potraviny. Některé druhy hmyzu (a jiných potravin) se ale dostaly na základě národních výjimek na vnitřní trh EU a zmiňovaným článkem 35 byly tak od 1. ledna 2018 legalizovány pro celý trh EU, i když nejsou ještě na seznamu Unie. To znamená, že uvedení konkrétního druhu hmyzu na trh je možné pokud se jedná o druh, který byl v souladu s národními předpisy v některé z členských zemí uveden na trh před 1. lednem 2018 a nejpozději do 1. ledna 2019 bude pro daný druh podána žádost o povolení nové potraviny. V současné době je tedy uvádění neschválených druhů hmyzu jako potraviny na trh časově omezeno a podmíněno. Ministerstvo zemědělství (2018) připravilo na základě informací z Dánska, Belgie, Finska, Velké Británie a Rakouska přehled druhů hmyzu, u kterých je známo, že byly legálně uvedeny na trh před 1. lednem 2018 a lze je tedy v souladu s platnými právními předpisy uvádět na trh v rámci EU do 1. ledna 2020. Jedná se o následující druhy: cvrček domácí (*Acheta domesticus*), potěmnik stájový - Buffalo (*Alphitobius*

diaperinus), včela medonosná (*Apis mellifera*), mravenec atta, střihač imago (*Atta laevigata*), štír Martensův (*Buthus martensii*), cvrček krátkokřídlý (*Grylloides sigillatus*), cvrček banánový (*Gryllus assimilis*), cvrček dvojskvrnný (*Gryllus bimaculatus*), sklípkan hrozivý (*Haplopelma minax, nigra*), mopanový červ (mopane, mopani) (*Imbrasia belina, Gonimbrasia belina*), saranče stěhovavá (*Locusta migratoria*), saranče americká (*Schistocerca americana*), saranče pustinná (*Schistocerca gregaria*), potemník moučný (moučný červ) (*Tenebrio molitor*), potemník brazilský (*Zophobas morio, Zophobas atratus*). K červnu roku 2018 bylo známo, že byla podána kompletní žádost k Evropské komisi k povolovacímu řízení pro potemníka stájového, cvrčka krátkokřídleho a potemníka moučného (Ministerstvo zemědělství, 2018). To znamená, že pro tyto druhy žadatel požádal i o pětiletou ochranu dat podle článku 26 nařízení o nových potravinách. Co se týká cvrčka domácího a sarančete stěhovavé a pustinné, tak u těchto druhů byla podána žádost, ale bez žádosti o pětiletou ochranu dat, tudíž povolení pro novou potravinu (v tomto případě dané druhy hmyzu) bude obecné a nebude určeno pouze pro žadatele (Ministerstvo zemědělství, 2018). Přechodné období podle článku 35 skončí 1. ledna 2020 a po tomto datu budou moci být uváděny na trh pouze druhy, které prošly povolovacím řízením a budou zapsané na seznamu Unie (nařízení o nových potravinách).

Uvádění hmyzu na trh

Na potraviny pocházející z hmyzu se dále vztahuje stejná legislativa jako pro jakékoliv jiné potraviny, tedy především musí být bezpečné pro lidskou spotřebu. Pro chovatele a zpracovatele hmyzu k lidské spotřebě vydalo ministerstvo zemědělství České republiky příručku, kde shrnuje zásadní body pro správnou zemědělskou a výrobní praxi produkce hmyzu (Ministerstvo zemědělství, 2018a). Chov hmyzu je do prvního prodeje v živém stavu považován za zemědělskou prvovýrobu. Nejméně sedm dnů před zahájením chovu hmyzu je chovatel, který má v úmyslu jako podnikatel chovat, ošetřovat, balit, skladovat, přepravovat nebo jinak uvádět na trh schválené druhy hmyzu, povinen oznámit zahájení činnosti místně příslušné krajské veterinární správě (KVS) (Zákon č. 166/1999 Sb.). Prostory pro chov hmyzu musí být v souladu s požadavky na stavby zemědělské prvovýroby určené pro chov hospodářských zvířat (§ 50 vyhlášky č. 268/2009 Sb.), přičemž obecné požadavky a povinnosti pro chovatele jsou stanoveny v paragrafech čtyři a pět veterinárního zákona. Základní podmínky jsou zejména chovat hmyz v podmínkách, které vyžadují jejich biologické potřeby a fyziologické funkce, sledovat zdravotní stav hmyzu, zabezpečit pravidelné čištění a desinfekci, dezinfekci a deratizaci prostor, používat k napájení vodu, která neohrožuje zdravotní stav hmyzu a zdravotní nezávadnost jejich produktů. Ke krmění může chovatel používat pouze zdravotně nezávadná a bezpečná krmiva vhodná pro hmyz určený k lidské spotřebě a v případě uhynulého hmyzu musí zajistit chovatel jeho neškodné odstranění v souladu s platnou legislativou (zejména s nařízením (ES) č. 1069/2009). Obaly používané k expedici hmyzu musí odpovídat požadavkům nařízení EP a R (ES) č. 1935/2004 o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami. Provozovatel podniku, který má v úmyslu povolené druhy hmyzu nakupovat, usmrcovat, zpracovávat, balit, skladovat, přepravovat či jinak uvádět na trh jako potravinu musí před zahájením činnosti požádat místně příslušnou KVS o schválení, případně registraci. Náležitosti žádosti jsou uvedeny ve vyhlášce č. 289/2007Sb., o veterinárních a hygienických požadavcích na živočišné produkty. Co se týká požadavků na hygienu výroby, výrobních prostor a osob, tak ty vycházejí

z evropských předpisů, které se týkají potravin obecně, protože na hmyz je nutno pohlížet stejně jako na jakékoliv jiné potraviny. Při zpracování hmyzu je tedy nutno dále dodržovat zejména nařízení EP a R (ES) č. 178/2002, č. 852/2004, č. 853/2004, č. 854/2004. Bezpečnost potravin, která se dostává ke konzumentům, je především následkem respektování a dodržování hygienických zásad uváděných v legislativě a povinného zavedení systému HACCP, jež platí i pro ČR. Jak platí pro potraviny obecně, veškerou odpovědnost za jakost hmyzu jako potraviny a především její bezpečnost nese sám výrobce (Ministerstvo zemědělství, 2018a).

Závěr

Problematika hmyzu, který má být určen k lidské spotřebě, je od ledna roku 2018 zřetelná. V rámci EU jsou nastaveny jasná pravidla v nařízení o nových potravinách, kdy po přechodném období po 1. lednu 2020 bude moci být na trh uváděn jen ten druh hmyzu, který bude zapsán na seznamu Unie pro nové potraviny, tedy ten, který prošel schvalovacím řízením pro novou potravinu. Do této doby se mohou uvádět na trh díky přechodnému období jen ty druhy hmyzu, u kterých je jasně potvrzeno, že byly před 1. lednem 2018 na základě národních výjimek konzumovány v některé z členských zemí EU.

Literatura

Česká Republika. Vyhláška 268/2009 Sb., ze dne 12. srpna 2009 o technických požadavcích na stavby. In: Sbírka zákonů, 2009, č. 81, s. 3702.

Česká Republika. Zákon č. 166/1999 Sb., ze dne 13. července 1999 o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů. In: Sbírka zákonů, 1999, č. 57, s. 3122.

Česká Republika. Vyhláška č. 289/2007Sb., ze dne 14. listopadu 2007 o veterinárních a hygienických požadavcích na živočišné produkty které nejsou upraveny přímo použitelnými předpisy Evropských společenství. 2007. In: Sbírka zákonů č. 95, s. 3970.

Ministerstvo zemědělství. 2018. Seznam druhů hmyzu, u kterých je známo, že byly legálně uvedeny na trh před 1. 1. 2018. 2018. Cit [9-8-2018]. Dostupné z: http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/prehled_hmyz_07062018.pdf.

Ministerstvo zemědělství. 2018a. Zásady správné zemědělské a výrobní praxe produkce hmyzu určeného pro lidskou spotřebu. ISBN: 978-80-7434-420-6. Cit [8-8-2018]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/576458/Zasady_produkce_hmyzu_4_2_.pdf.

Evropská Unie. Nařízení evropského parlamentu a rady (EU) 2015/2283 ze dne 25. listopadu 2015 o nových potravinách, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 a o zrušení nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 258/97 a nařízení Komise (ES) č. 1852/2001. In: Úřední věstník Evropské unie L 327/1-327/22, 11/12/2015.

Evropská Unie. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 258/1997 ze dne 27. ledna 1997 o nových potravinách a nových složkách potravin. In: Úřední věstník Evropské unie L 43/1, 14/02/199, s. 244-249

Evropská Unie. Prováděcí nařízení komise (EU) 2017/2470 ze dne 20. prosince 2017, kterým se zřizuje seznam Unie pro nové potraviny v souladu s nařízením Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/2283 o nových potravinách. In: Úřední věstník Evropské unie L351/73-L351/200, 30/12/2017.

Kontaktní adresa

Ing. Kamila Novotná Kružíková, Ph.D.

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie

Ústav veřejného a soudního veterinárního lékařství

Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno

e-mail: novotnak@vfu.cz

Vliv aditiv na viskozitní vlastnosti slepičích tekutých vaječných hmot

Effect of additives on viscous properties of liquid hen egg products

Ondrušíková, S., Nedomová, Š., Pytel, R., Kumbár, V.
Mendelova univerzita v Brně

Souhrn

Cílem této práce bylo sledování změn viskozity tekutých vaječných hmot v závislosti na druhu a koncentraci aditivních látek (cukr, sůl, kyselina citronová, triethyl citrát, sojový lecitin a protein). Hodnoty viskozity byly stanoveny při teplotě 21 °C pomocí rotačního viskozimetru se standardizovaným vřetenem při smykové deformační rychlosti 1 s⁻¹.

Nejvyšší průměrná viskozita byla zjištěna u vzorku slepičích bílků vajec s přidavkem 0,03% triethyl citrátu (2 259,5 mPa·s). Viskozita slepičích bílků s ostatními druhy přísad se pohybovala v rozmezí 187,5 – 664 mPa·s. Viskozita vaječných žloutků dosahovala hodnot značně vyšších, kdy při přidavku 10% soli a přidavku 12% soli a 6 % cukru dosahovala 25 539 mPa·s, z čehož vyplývá, že sůl významně zvyšuje viskozitu vaječného žloutku. Hodnoty viskozity slepičích žloutků s dalšími přísadami se pohybovaly v rozmezí 200,7 – 16 542 mPa·s. Viskozita vaječné melange se pohybovala v rozmezí od 120,9 mPa·s do 399,5 mPa·s pro slepičí melanz s přidavkem 50 % cukru. Z výsledků je patrné, že přísady běžně dostupných aditivních látek mají výrazný vliv na viskozitní vlastnosti vaječných tekutin.

Abstract

The aim of this work was to monitor changes in viscosity of liquid egg masses depending on species and concentration of ingredients (sugar, salt, citric acid, triethyl citrate, soya lecithin and protein). Viscosity values were determined at 21 °C using a standardized spindle rotating viscometer at 1 s⁻¹ shear deformation.

The highest average viscosity was found in the hen egg albumen sample with the addition 0.03% triethyl citrate (2259.5 mPa·s). The viscosity of chicken proteins with other types of additives ranged between 187.5 and 664 mPa·s. The viscosity of the egg yolks was significantly higher, with the addition of 10% salt and 12% salt and 6% sugar added at 25,539 mPa·s, indicating that the salt significantly increases the viscosity of the egg yolk. Viscosity values for hen egg yolks with additional additions ranged from 200.7 to 16542 mPa·s. The viscosity of the egg melange ranged from 120.9 mPa·s (addition of 0.03% triethyl citrate) to 399.5 mPa·s for hen melange with 50% sugar added.

The results show that additives of commonly available additives have a significant effect on the viscosity properties of egg-based products.

Klíčová slova: *slepičí vejce, smyková deformační rychlost, tekuté vaječné hmoty, viskozita, aditiva*

Úvod

Vejce jsou považována za velmi ceněnou potravinu, a to nejen z hlediska jejich vyvážených nutričních hodnot, ale také zejména díky jejich funkčním vlastnostem, kterých se využívá v mnoha potravinářských odvětvích (Ahmed a kol., 2003). Tradičně jsou vejce uváděna na trh jako skořápková pro malospotřebitelský trh, avšak vlivem

změn životního stylu a technologií se stále zvyšuje poptávka po průmyslově zpracovaných vaječných hmotách. Tyto výrobky lze klasifikovat jako chlazené, sušené či zmražené produkty (Atilgan a kol., 2008).

Vaječný bílek bývá nejčastěji využíván v pekárenském a cukrářském průmyslu, a to díky schopnosti tvorby pěny a její stabilitě, čehož se využívá nejen při kypření. Využívá se k přípravě majonéz, dresinků, omáček, těstovin (Alvarez a kol., 2006). Vaječná melanž, která se získává smísením vaječného bílku a žloutku se využívá jako přísada převážně v pekárenském a cukrářském průmyslu, ale také ve stravovacím průmyslu pro přípravu omelet, či míchaných vajec (Atilgan a kol., 2008).

Reologické vlastnosti potravin jsou důležité z hlediska návrhu a stanovení průtokových procesů, kontroly kvality, sensorického hodnocení, ale i skladování potravin. Základní veličinou, která charakterizuje chování potravin v toku je viskozita, která určuje míru vnitřního odporu, tedy odpor proti toku (Kokini a kol., 2006). Viskozita bílku a žloutku závisí na řadě faktorů – stáří vajec, teplotě, pH, měrné hmotnosti, obsahu vody a namáhání (střihových silách). Relativní viskozita žloutku je asi 8x vyšší než viskozita bílku.

Vaječné hmoty se aditivují z několika důvodů, přičemž jedním z nejvýznamnějších a značně využívaným v potravinářském průmyslu je stabilizace pěny a konzervace.

Materiál a metodika

Pro stanovení viskozity vaječných tekutin s přísady byla použita vejce slepičí, která pocházela z klecového chovu z Jižní Moravy od nosnic plemene Hisex Brown ve 20. týdnu snášky, které byly krmeny kompletní krmnou směsí. Pro přípravu vaječných hmot byla vejce ručně vytlučena, jednotlivé tekuté vaječné hmoty byly separovány (na bílek, žloutek a melanž) a dále homogenizovány. Do takto připravených tekutých vaječných hmot byly přidány aditivní látky v různých koncentracích.

Přísady použité do vaječných hmot:

- kuchyňská sůl (obohacena o jodičnan draselný, prodejce Kaufland Česká republika v.o.s., vyrobeno v Rakousku),
- cukr moučka (s obsahem protihrudkujících látek, prodejce Tesco Stores ČR a.s., vyrobeno na Slovensku),
- kyselina citronová (bezvodá, výrobce Lach-Ner, s.r.o. se sídlem v Neratovicích v České republice),
- triethyl citrát (výrobce FICHEMA s.r.o. se sídlem v Brně),
- sojový lecitin (dodavatel SOYA INTERNATIONAL, Velké Británii),
- kukuřičný sirup (výrobce Country Life, s. r. o. Slovensku),
- syrovátkový protein (výrobce Azelis Czech Republic s.r.o. se sídlem v Praze).

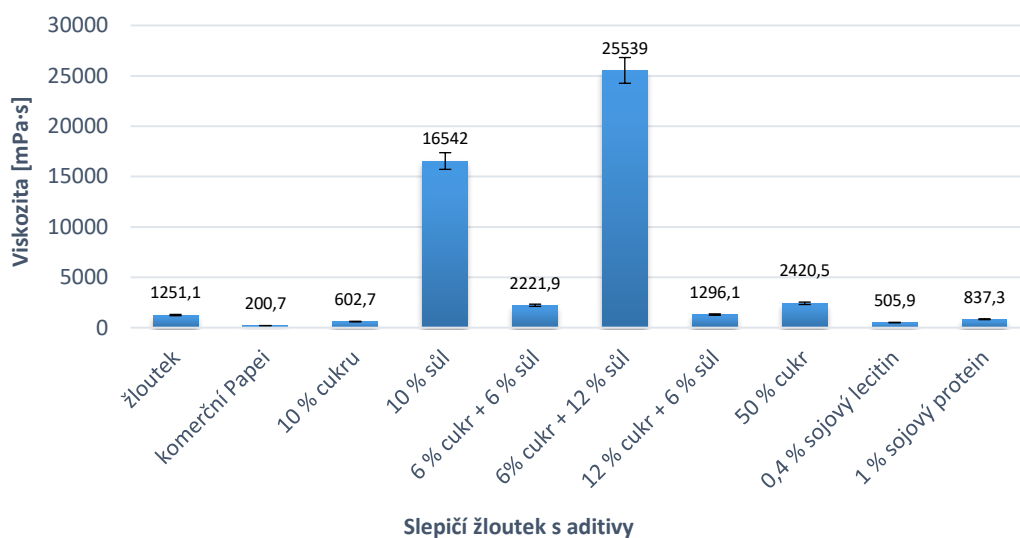
Pro porovnání vlastností vaječných hmot byly použity:

- vaječný bílek (pasterovaný, doba trvanlivosti uzavřeného bílku 21 dní, Papei, a.s., vyrobeno v České republice),
- vaječný žloutek (pasterovaný, doba trvanlivosti uzavřeného žloutku 21 dní, Papei, a.s., vyrobeno v České republice),
- vaječná melanž (pasterovaný, doba trvanlivosti uzavřeného melanže 21 dní, Papei, a.s., vyrobeno v České republice).

Viskozita jednotlivých tekutých vaječných hmot s přísady byla stanovena pomocí rotačního viskozimetru (Anton Paar typ DV-3P), který měří krouticí moment standardizovaného vřetene (TR8) ponořeného do vzorku při teplotě prostředí 21 °C. Pro měření byla stanovena smyková deformační rychlost 1 s⁻¹. Měření bylo přístrojem provedeno 10x, výsledkem je průměrná hodnota dynamické viskozity.

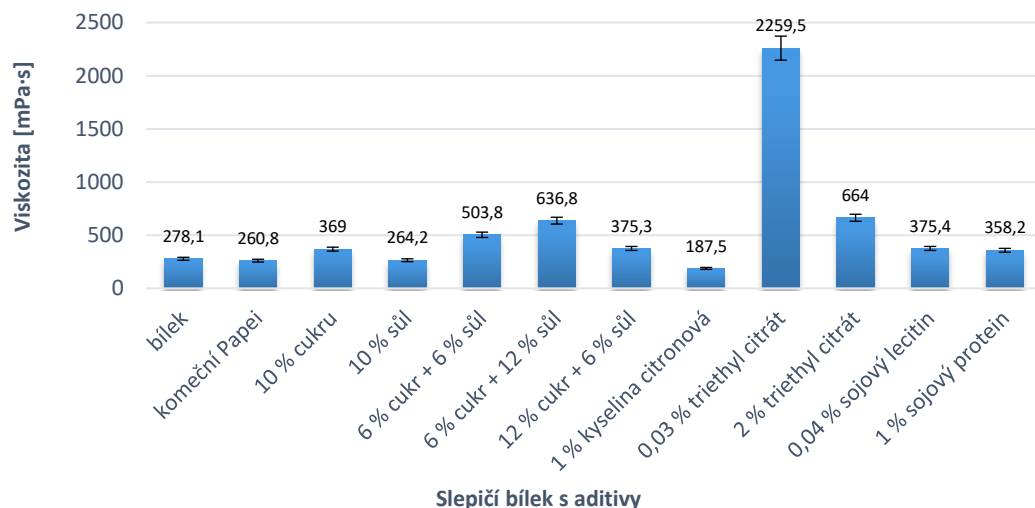
Výsledky a diskuze

Průměrná viskozita čerstvého slepičího žloutku (viz Obrázek 1) z laboratorních vzorků bez přísady činila 1251,1 mPa·s, kdy pro srovnání s komerčně zakoupeným vaječným žloutkem je tato hodnota 6 × vyšší. Komerčně prodávané tekuté vaječné hmoty jsou již pasterovány, což také ovlivňuje jejich viskozitu. Kumbár a kol. (2015) uvádí, že s rostoucí délkou skladování vajec a vaječných tekutin, dochází ke snižování viskozity. Hodnoty viskozity slepičího žloutku bez přísady se relativně shodují se studií Severa a kol. (2010), která uvádí při smykové deformační rychlosti 1 s⁻¹ hodnotu viskozity žloutku 2023 mPa·s. Pro žloutek s jednotlivými přísadami se průměrná viskozita pohybovala v rozmezí od 505,9 mPa·s (0,04 % sojový lecitin) do 25539 mPa·s (6 % cukr + 12 % sůl). Simeonovová (2013) uvádí viskozitu slepičího žloutku zahuštěného dosahující až 20000 mPa·s, což odpovídá i našim výsledkům u vaječných tekutin s přísadami soli a cukru.



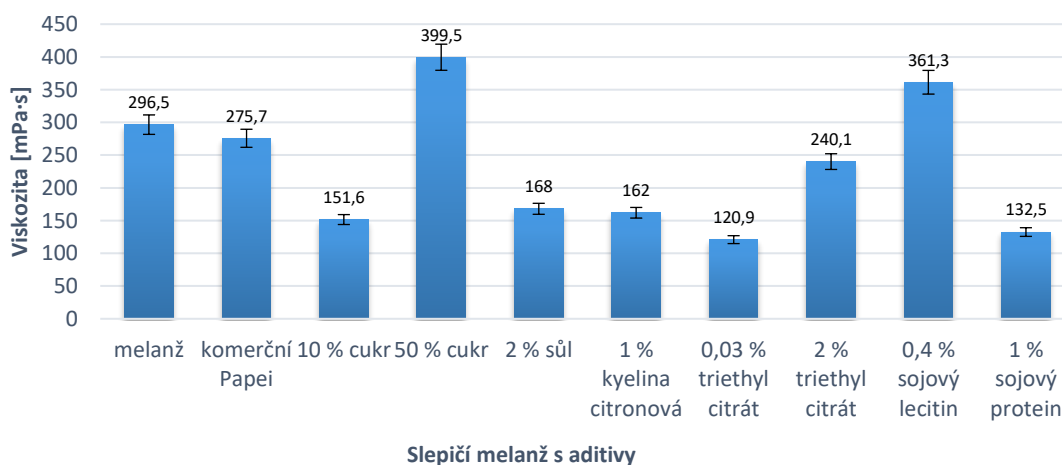
Obrázek 1: Viskozita slepičího žloutku při smykové rychlosti 1 s⁻¹ v závislosti na druhu přísady [mPa·s]

Viskozitu vaječného bílku uvádí Obrázek 2. Nejvyšší viskozita byla zjištěna u bílku s přísadkou 0,03 % triethyl citrátu s hodnotou 2259,5 mPa·s. Oproti tomu nejnižší viskozity bylo dosaženo přísadkou 1 % kyseliny citronové, kdy činila 187,5 mPa·s. Hodnoty viskozity u slepičích bílků s různými přísadami se pohybovaly v rozmezí 187,5 – 1 259,5 mPa·s. Viskozita slepičího bílku s přísadkou 10 % cukru je shodná se studií Hao a kol. (2016), která uvádí průměrnou hodnotu viskozity s přísadkou cukru 324 mPa·s. Spada a kol. (2012) uvádí viskozitu slepičích bílků nosnic plemene ISA Brown od 141,1 až 218,3 mPa·s.



Obrázek 2: Viskozita slepičího bílku při smykové rychlosti 1 s^{-1} v závislosti na druhu přídavku [mPa·s]

Viskozita vaječné melanže slepičích vajec je uvedena na Obrázku 3. Viskozita melanže skořápkových vajec byla $296,5 \text{ mPa}\cdot\text{s}$. Této hodnotě viskozity se přiblížila i viskozita komerčně zakoupené vaječné melanže Papei, která byla $272,7 \text{ mPa}\cdot\text{s}$. Nejvyšší viskozita byla naměřena u vzorku s přídavkem 50 % ($399,5 \text{ mPa}\cdot\text{s}$), oproti tomu nejnižší viskozitu vykazovaly vzorky s přídavkem 0,03 % triethyl citrátu ($120,9 \text{ mPa}\cdot\text{s}$). Viskozitu vaječné melanže také značně ovlivnil i přídavek sojového lecitinu, kdy při přídavku 0,4 % dosáhla viskozita $361,3 \text{ mPa}\cdot\text{s}$.



Obrázek 3: Viskozita slepičí melanž při smykové rychlosti 1 s^{-1} v závislosti na druhu přídavku [mPa·s]

Závěr

Tato studie byla zaměřena na sledování vlivu aditiv na viskozitní vlastnosti, tekutých vaječných hmot, kdy k vaječnému žloutku, bílku a melanži byly přidány běžně dostupné aditivní látky (cukr, sůl, kyselina citronová, triethyl citrát, sojový lecitin a protein). Viskozita byla měřena při smykové deformační rychlosti 1 s^{-1} .

Z výsledku je patrné, že viskozita tekutých vaječných hmot je značně ovlivněna druhem a koncentrací aditivních látek.

Literatura

- Ahmed, J., Ramaswamy, H. S., Alli, I. Ngadi, M. Effect of high pressure on rheological characteristics of liquid egg. *Lebensm.-Wiss.u-Technology*, 2006, 36, s. 517 – 524.
- Alvarez, E.; Cancela M. A., Macerías, R. Comparison of rheological behaviour of salad sauces. *International Journal of Food Properties*, 2006, 9, s. 907 – 915.
- Atilgan, M. R., Unluturk, S. Rheological properties of liquid egg products (LEPS). *International Journal of Food Properties*, 2008, 11(2), s. 296 – 309.
- Hao, Y., Wang, F., Huang, W., Tang, X., Zou, Q., Li, Z., Ogawa, A. Sucrose substitution by polyols in sponge cake and their effects on the foaming and thermal properties of egg protein. *Food Hydrocolloids*, 2016, 57(1), s. 153 – 159. ISSN 0268-005X.
- Kadlec, P. *Technologie potravin I*. 1.vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2008, 300 s. ISBN 978-80-7080-509-1.
- Kokini, J. L., Dogan, H. Rheological properties of foods. In: *Handbook of Food Engineering, Second Edition*. CRC Press, 2006, s. 13 – 136.
- Kumbár, V., Nedomová, Š., Strnková, J., Buchar, J. Effect of egg storage duration on the rheology of liquid egg products. *Journal of Food Engineering*, 2015, 156, s. 45 – 54.
- Severa, L., Nedomová, Š., Buchar, J., Influence of storing time and temperature on the viscosity of an egg yolk. *Journal of Food Engineering*, 2010, 96(2), s. 266 – 269. ISSN 0260-8774.
- Severa, L., Nedomová, Š., Křivánek, I., Buchar, J. Rheological properties of ageing egg yolk. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendeliana Brunensis*, 2014, 53(4), s. 127 – 138.
- Simeonovová, J. *Technologie drůbeže, vajec a minoritních živočišných produktů*. Vyd. 2. nezměněné. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2013, 241 s. ISBN 978-80-7375-891-2.
- Spada, F. P., Gutierrez, É. M. R., Souza, M. C. D., Brazaca, S. G. C., Lemes, D. E. A., Fischer, F. S., Savino, V. J. M. Viscosity of egg white from hens of different strains fed with commercial and natural additives. *Food Science and Technology*, 2012, 32(1), s. 47 – 51.

Poděkování

Tento výzkum byl podpořen IGA AF MENDELU TP 2/2017 „Vliv aditiv na reologické vlastnosti potravin a surovin určených k jejich výrobě“.

Kontaktní adresa

Ing. Sylvie Ondrušíková
MENDELU Brno, Agronomická fakulta
Ústav technologie potravin
Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno
e-mail: sylvie.ondrusikova@mendelu.cz

Variabilita somatických buniek a ich vzťah k produkcii ovčieho mlieka a obsahu jeho zložiek

Variability of somatic cells and their relations with milk yield and milk components in ewes

Oravcová¹, M., Mačuhová¹, L., Uhrinčat¹, M., Tančin^{1,2}, V.

¹NPPC-Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra

²Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

Cieľom bolo analyzovať počet somatických buniek (SCC) vo vzťahu k dennej produkcii mlieka, obsahu tuku, bielkovín a laktózy čistokrvných bahníc plemien zošľachtená valaška (ZV), cigája (C) a lacaune (LC), ako aj kríženíek týchto plemien (IV x LC a C x LC). Do analýzy boli zahrnuté údaje z kontroly mliekovej úžitkovosti za roky 2010-2013, analyzovaným ukazovateľom bol SCC prepočítaný na $\log_{10}SCC$. Hodnotenie bolo urobené pomocou zmiešaného modelu s pevnými (plemenná skladba, poradie laktácie, mesiac laktácie, mesiac-rok kontroly, interakcia poradie x mesiac laktácie a lineárne regresie na produkciu mlieka a základné zložky mlieka) a náhodnými faktormi (bahnica a náhodná chyba). Lineárne závislosti od produkcie mlieka a obsahu laktózy boli kladné a významne odlišné od nuly, lineárne závislosti od obsahu tuku a bielkovín boli záporné (významne odlišná od nuly bola závislosť od obsahu bielkovín). Okrem mesiaca laktácie boli významné všetky faktory v modeli. Na posúdenie vzťahu medzi SCC a mikroorganizmami spôsobujúcimi ochorenia vemená treba robiť analýzy na fyziologickej úrovni. Tiež je potrebné vyvíjať stratégie na kontrolu mastitídy, a to z hľadiska významu SCC v súvislosti so zdravotným stavom vemená a produkciou mlieka.

Abstract

The objective of this study was to analyse somatic cell count (SCC) in dairy sheep breeds in Slovakia: Tsigai (TS), Improved Valachian (IV) and Lacaune (LC), and their crosses (IVxLC and TSxLC). Data from milk performance testing of ewes recorded between 2010 and 2013 were used; somatic cell count transformed to $\log_{10}SCC$ was analysed. Mixed model included fixed (genotype, lactation number, month in milk, year-month of measurement, interaction lactation number x month in milk and linear regressions on milk yield and milk components) and random factors (ewe and residual error) were considered. Linear regressions on milk yield and lactose content were positive and significantly differed from zero ($P < 0.01$), linear regressions on fat content and protein content were negative (only latter significantly differed from zero). Except for month in milk, all factors in the model were statistically significant ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). With respect to effective mastitis control programmes, further research is needed to understand an importance of somatic cells in relation to risk that may be related to udder health and milk traits.

Kľúčové slová: bahnice, somatické bunky, mlieko, tuk, bielkoviny, laktóza

Úvod

Dojné ovce patria medzi tradičné odvetvia živočíšnej výroby na Slovensku; miestnym podmienkam prispôsobené plemená zošľachtená valaška a cigája sú najpočetnejšie.

Okrem nich sa chovajú aj špecializované plemená (lacaune a východofrízske), na základe ktorých sa s cieľom zvýšiť produkciu mlieka tvorí syntetická populácia dvoj a trojplemenných kríženík s tradičnými plemenami. Somatické bunky a ich počet (SCC) sú významným indikátorom zdravia vemena (Abdelgawad a kol., 2016). Liečenie mastitídy je finančne náročný proces, zápaly mliečnej zľazy poškadzujú tkanivo a zvyšujú SCC (Burriel, 1997; Pengov, 2001). Počet somatických buniek a jeho vzťah k produkcii ovčieho mlieka a jeho zloženiu skúmali napr. Gonzalo a kol. (1994) a Olechnowicz a kol. (2009). Hariharan a kol. (2004) skúmal vzťahy medzi výskytom somatických buniek a patogénov.

Na Slovensku sa SCC rutinne nezisťuje; tento ukazovateľ nie je zaradený do kontroly úžitkovosti oviec. V minulosti boli publikované štúdie, ktoré sa zameriavali na analýzu faktorov, ktoré SCC ovplyvňujú (Margetín a kol., 1995), ako aj korelácie medzi SCC a ukazovateľmi mliekovej úžitkovosti oviec (Vršková a kol., 2015; Tančin a kol., 2017). Cieľom tejto štúdie bolo skúmať závislosť SCC ($\log_{10}SCC$) od produkcie mlieka a jeho zloženia s prihliadnutím na rôznu plemennú štruktúru bahníc chovaných v SR a ďalšie faktory.

Materiál a metodika

Na analýzu sa použili údaje z kontroly mlieka pochádzajúce z ranného dojenja v experimentálnej farme situovanej na západnom Slovensku počas štyroch rokov (2010-2013). Kontrolné merania sa robili 1x mesačne po skončení obdobia cicania jahniat (40 ± 10 dní). Vzorky mlieka sa odoberali 1x mesačne; zložky mlieka (obsah tuku, bielkovín a laktózy) sa stanovili prístrojom MilkoScan FT120 (Foss, Hillerod, Dánsko) a počet somatických buniek (SCC) sa stanovil prístrojom Fossmatic 90 (Foss Electric, Hillerod, Dánsko) po zahriatí na $40^{\circ}C$ po dobu 15 min. Keďže ukazovateľ SCC nespĺňa vlastnosti normálneho rozdelenia, na štatistické analýzy bol použitý ukazovateľ $\log_{10}SCC$. K dispozícii bolo 2 623 kontrolných meraní mlieka od 435 bahníc (z toho 34 bolo plemena cigája (C), 10 plemena zošľachtená valaška (ZV), 103 plemena lacaune (LC), kríženík C x LC bolo 139 a kríženík ZV x LC 149). Bahnice boli dojené v prvom až piatom mesiaci laktácie; mali min. 3 kontrolné merania na laktáciu; boli v prvej (285), v druhej (228) a v tretej laktácii (200).

Na výpočty bol použitý zmiešaný model s pevnými a náhodnými faktormi (PROC Mixed, SAS 9.2, 2009). Medzi pevné faktory boli zaradené plemenná skladba, poradie laktácie, mesiac laktácie, mesiac-rok kontroly, interakcia poradie laktácie x mesiac laktácie a lineárne regresie na produkciu mlieka a jeho tri základné zložky. Medzi náhodné faktory boli zaradené efekt bahnice a náhodná chyba. Pevné faktory boli odhadnuté metódou najmenších štvorcov; ich významnosť Fisherovým F-testom. Významnosť rozdielov medzi jednotlivými úrovňami pevných faktorov bola posúdená Scheffého testom. Na odhad podielov rozptylu náhodných efektov bola použitá metóda REML.

Výsledky a diskusia

Analýza variácií (Tabuľka 1) ukázala štatisticky vysoko významný vplyv ($P < 0,01$) plemennej skladby, poradia laktácie a zloženého faktora rok-mesiac kontrolného merania a štatisticky významný vplyv ($P < 0,05$) interakcie poradie laktácie x mesiac laktácie na ukazovateľ $\log_{10}SCC$. Mesiac laktácie mal štatisticky nevýznamný vplyv ($P > 0,05$).

Tabuľka 1: Analýza variácií – štatistická významnosť Fisherovho F-testu pre log₁₀SCC

Ukazovateľ	Faktor				
	Plem. skladba	Laktácia	MIM	Rok-mesiac	Lakt*MIM
log ₁₀ SCC	++	++	-	++	+

MIM – Mesiac laktácie, Lakt – poradie laktácie, log₁₀SCC – dekadický logaritmus SCC, ++P<0,01, +P<0,05, -P>0,05

Analýza kovariancií (Tabuľka 2) ukázala, že lineárna závislosť log₁₀SCC od produkcie mlieka, od obsahu bielkovín a obsahu laktózy je štatisticky vysoko odlišná od nuly (P<0,01). Lineárne koeficienty boli negatívne pre produkciu mlieka (-0,00023) a obsah laktózy (-0,6489) a pozitívne pre obsah bielkovín (+0,1015) a tuku (+0,00073), ktorý však nebol štatisticky významný od nuly (P>0,05). Lineárne koeficienty odzrkadľovali všeobecne známe závislosti medzi SCC a príslušnými ukazovateľmi: s rastúcim SCC klesala produkcia mlieka a laktózy, s rastúcim SCC sa zvyšoval obsah tuku a bielkovín. Podľa doterajších poznatkov autorov, pri ovciach zatiaľ neboli publikované štúdie zamerané na analýzu závislostí log₁₀SCC od produkcie mlieka a obsahu jeho zložiek prostredníctvom lineárnych koeficientov. Pri kozách bol tento výskum urobený pri plemene murciano-granadina (Pleguezuelos a kol., 2015). V porovnaní s odhadmi lineárnych koeficientov slovenských dojných plemien oviec, uvedení autori publikovali vyššie hodnoty odhadov koeficientov (neskúmali však vzťah medzi log₁₀SCC a obsahom laktózy).

Tabuľka 2: Odhady lineárnych koeficientov závislosti log₁₀SCC od ukazovateľov

Ukazovateľ	Odhad koeficienta ± štandardná chyba	Významnosť
Mlieko* (ml)	-0,00023±0,00008	++
Obsah tuku (%)	+0,00730±0,01342	-
Obsah bielkovín (%)	+0,10150±0,03085	++
Obsah laktózy (%)	-0,64890±0,04361	++

*Mlieko z ranného dojenia; ++P<0,01, +P<0,05, -P>0,05

Pri čistokrvných bahniciach (LC, ZV a C) bol log₁₀SCC odhadnutý na úrovni 5, 34, 5, 20 a 4,71; pri kríženkách C x LC a ZV x LC na úrovni 5,31 a 5,33. Hodnota pri plemene C sa zhodovala s poznatkom Vrškovej a kol. (2015) publikovaným pre to isté plemeno. Naproti tomu Margetín a kol. (1995) zistili pre bahnice C a ZV dvakrát nižšie hodnoty ako v tejto štúdii. Olechnowicz a kol. (2009) zistili log₁₀SCC = 5,19 (lína 05 poľskej ovce). Tančin a kol. (2017) zistili log₁₀SCC pri plemene LC medzi 5,27 a 5,80 (päť stád).

Tabuľka 3: Odhady priemerov a štandardné chyby odhadov pre log₁₀SCC podľa plemennej skladby

Ukazovateľ	Plemenná skladba				
	C	ZV	LC	C x LC	ZV x LC
	N=194	N=49	N=577	N=826	N=977
log ₁₀ SCC	5,20 ± 0,07 ^a	4,71 ± 0,13 ^b	5,34 ± 0,04 ^{ac}	5,31 ± 0,04 ^{ac}	5,33 ± 0,04 ^{ac}

N – počet pozorovaní, C – cigája, ZV – zošľachtená valaška, LC – lacaune, ^{abc} – označujú štatistickú významnosť rozdielov (P<0,05) podľa plemennej skladby

Záver

Výskum potvrdil negatívny vzťah medzi somatickými bunkami a produkciou mlieka: s rastúcim počtom somatických buniek, produkcia mlieka klesala. Potvrdili sa aj rozdiely v závislosti od plemennej skladby. Somatické bunky sa v ovčom mlieku nachádzajú vždy, avšak potrebné je stanoviť fyziologickú hranicu pre zdravé plemeno.

Literatúra

- Abdelgawad A. R., Rovai M., Caja G., Leitner G., Castillo, M. 2016. Evaluating coagulation properties of milk from dairy sheep with subclinical intramammary infection using near infrared light scatter. A preliminary study. *J. Food Engineering* 168, 180–190
- Burriel, A.R. 1997. Dynamics of intramammary infections in the sheep caused by coagulase-negative staphylococci and its influence on udder tissue and milk composition. *Vet. Rec.*, 140, 419–423
- Gonzalo, C., Carriedo, J.A., Baro, J.A., San Primitivo, F. 1994. Factors influencing variation of test day milk yield, somatic cell count, fat and protein in dairy sheep. *J. Dairy Sci.*, 77, 1537–1542
- Hariharan, H., Donachie, W., Macaldowie, C., Kéefe, G. 2004. Bacteriology and somatic cell count in milk samples from ewes on a Scottish farm. *Canadian J. Vet. Res.*, 68, 188–192
- Margetín, M., Čapistrák, A., Valkovský, P., Špánik, J., Foltys, V. 1995. Variation in somatic cell counts in ewe's milk during lactation. *Živočišná výroba [Czech J. Anim. Sci.]*, 40, 257–261
- Olechnowicz, J., Jaskowski, J.M., Antosik, P., Bukowska, D. 2009. Milk Yield and composition in line 05 dairy ewes as related to static cell counts. *J. Anim. Food Sci.*, 18, 420–428
- Pengov, A.F. 2001. The role of colagulase-negative staphylococcus spp. and associated somatic cell counts in the ovine mammary gland. *J. Dairy Sci.*, 84, 572–574
- Pleguezuelos, F.J., De La Fuente, L.F., Gonzalo, C. 2015. Variation in milk yield, contents and incomes according to somatic cell count in a large dairy goat population. *J. Adv. Dairy Res.*, 3, 145
- SAS Institute Inc. 2009. SAS/STAT® 9.2 User's Guide, Second Edition, Cary, NC USA
- Tančin, V., Uhrinčať, M., Mačuhová, L., Baranovič, Š., Vršková, M. 2017. Somatic cell count in milk of individual Lacaune ewes under practical conditions in Slovakia: possible effect on milk yield and its composition. *Potravinárstvo – Sci. J. Food Industry*, 11, 386-390
- Vršková, M., Tančin, V., Kirchnerová, K., Sláma, P. 2015. Evaluation of daily milk production in Tsigai ewes by somatic cell count. *Potravinárstvo – Sci. J. Food Industry*, 9, 206–210

Pod'akovanie

Práca bola podporená projektom APVV-15-0072 Agentúry pre vedu a výskum Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR.

Kontaktná adresa

Ing. Marta Oravcová, PhD., NPPC-Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Lužianky, Odbor systémov chovov, šľachtenia a kvality produktov, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, e-mail: oravcova@vuzv.sk

Štúdium priebehu zrecieho procesu v prsnej a stehennej svalovine brojlerových kurčiat
Study of the course of the ripening process in breast and thigh muscles of broiler chickens

Petriková, D., Koréneková B., Marcinčák, S. Kožárová, I.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Katedra hygieny a technológie potravín

Súhrn

Práca sa zaoberá hodnotením priebehu zrecích procesov v prsnej a stehennej svalovine brojlerových kurčiat. Do pokusu boli zahrnuté 1 – dňové kurčatá plemena Cobb. Kurčatá boli kŕmené kŕmnom zmesou BR1 do 20. dňa, BR2 do 30. dňa a BR3 do 39. dňa, kedy boli kurčatá usmrtené. Vo vzorkách prsnej a stehennej svaloviny bola stanovená koncentrácia kyseliny mliečnej, fosfátov a hodnoty pH mäsa na 1, 3 a 7. deň zrenia pri teplote uskladnenia 4 °C. Výsledky práce poukazujú na signifikantné zvýšenie koncentrácií kyseliny mliečnej a fosfátov a zníženie hodnôt pH v prsnej svalovine na 3. deň pokusu. Tento priebeh zmien sa menej výrazne prejavil aj v stehennej svalovine brojlerových kurčiat.

Kľúčové slová: *kyselina mliečna, fosfáty, pH, brojlery, prsná svalovina, stehenná svalovina*

Abstract

The work deals with the assessment of the cause of ripening process in breast and thigh muscle of broilers. One – day broiler chickens of Cobb breed were included in the experiment. Chicken were fed by feed mixture BR1 to day 20 and BR2 to day 30 and BR3 to day 39, when chicken were slaughtered. The concentrations of lactic acid, phosphates and pH values were analysed on day 1, 3, 7 of ripening at temperature of storing 4 °C. The results of study show that the significant increase of concentrations of lactic acid, phosphates and decrease of pH values were in breast and thigh muscles on day 3 of experiment. This cause of changes was less important manifested in thigh muscle of broilers chicken.

Keywords: *lactic acid, phosphates, pH, broilers, breast muscle, thigh muscle*

Úvod

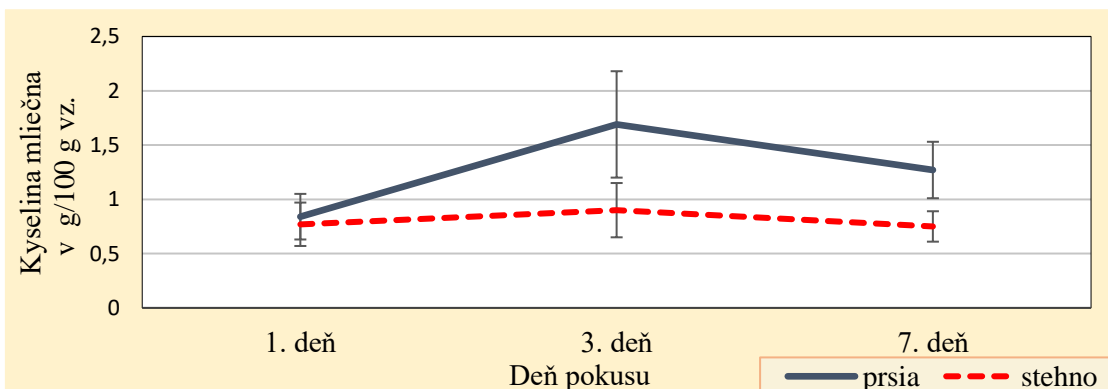
Brojlerové kurčatá Cobb 500 patria medzi najrozšírenejšie šľachtené hybridy určené na produkciu hydínového mäsa. Mohutnú stavbu tela s vysokým podielom prsnej a stehennej svaloviny dosahujú rýchlo zužitkovaným kŕmivom, a preto usmrtenie tejto hydiny môže nastať už od 5. po 7. týždeň chovu. Významnými ukazovateľmi kvality mäsa sú jeho senzorické a technologické vlastnosti. Tie sa pomerne dynamicky vyvíjajú v priebehu postmortálnych biochemických reakcií, kedy dochádza ku premene svaloviny na mäso (Squier, 2011). Ovplyvnené sú fyzikálno – chemickými faktormi, ako sú koncentrácie kyseliny mliečnej, fosfátov a hodnotami pH mäsa. Cieľom práce bolo porovnať dynamiku zmien týchto faktorov v priebehu zrecieho procesu v prsnej a stehennej svalovine brojlerových kurčiat.

Materiál a metodika

Kurčatá mäsového hybridu Cobb 500 (Hydina Slovensko s.r.o.) vo veku 1. deň v počte 50 ks boli chované na hľbokej podstielke. Prístup k vode mali *ad libitum*. Kŕmené boli kŕmnou zmesou BR1 do 20. dňa, BR2 do 30. dňa a BR3 do 39. dňa, kedy boli usmrtené. Odobraté boli vzorky prsnej (10) a stehennej (10) svaloviny, ktoré boli uskladnené pri 4 °C. Fyzikálno – chemické analýzy sa vykonali 24 h po porážke, t.j. 1. deň pokusu a na 3. a 7. deň pokusu. Na stanovenie kyseliny mliečnej a fosfátov sa využila metóda elektroforetickej analýzy, používaná na kontrolu zrenia mäsa u rôznych druhov zvierat (Koréneková a kol., 2014, Mačanga a kol., 2011). Kyselina mliečna a fosfáty boli extrahované zo svaloviny destilovanou vodou. Vzorky po filtrácii boli stanovené Elektroforetickým analyzátorom (EA 102, Villa Labeco s.r.o., SR) za použitia vodivostného detektora. Prúd v predseparačnej kolóne (dĺžka 90mm) bol 250 μ A a v analytickej kolóne (dĺžka 160 mm) 50 μ A. Použitý bol vodiaci elektrolyt: 10 mmol HCl + β -alanín + 0,1% m-HEC a zakončujúci elektrolyt: 5 mmol kyselina kaprónová + 5 mmol TRIS. Analýzy boli vyhodnotené programom ITP Pro 32 (KasComp, Bratislava, SR) a udávané v g/100g vzorky. Hodnoty pH boli stanovené sklenenou elektródou vo vodnom extrakte svaloviny pH-metrom (InoLab WTW 720). Štatistická analýza bola vykonaná v programe Microsoft Excel 2013 použitím Studentovho t-testu a ďalších štatistických metód ako aritmetický priemer, smerodajná odchýlka, korelačný koeficient.

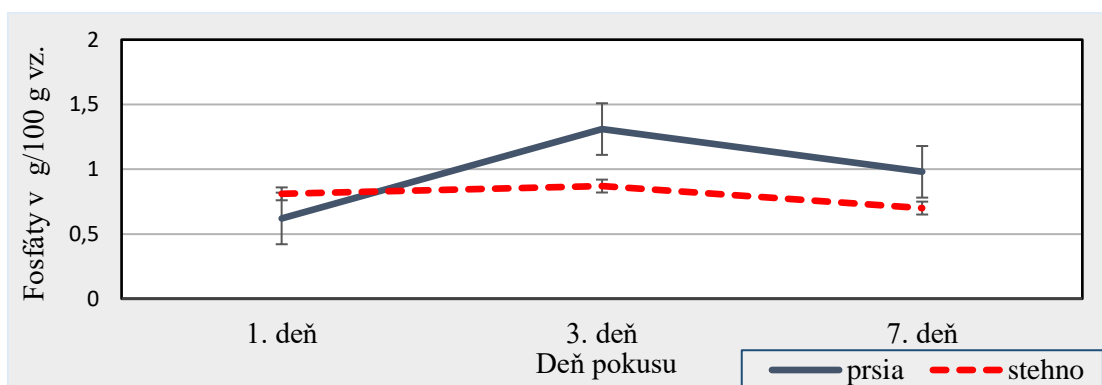
Výsledky a diskusia

V prsnej svalovine bola koncentrácia kyseliny mliečnej v 1. deň pokusu $0,84 \pm 0,21$ g/100g vzorky. Počas prvých 3 dní zrecieho procesu sa významne zvýšila ($p \leq 0,001$) a dosiahla hodnotu $1,69 \pm 0,49$ g/100g vzorky (Graf 1). Hodnota korelačného koeficientu bola $-0,84$. Na 7. deň pokusu bol pozorovaný významný pokles ($p \leq 0,5$) kyseliny mliečnej $1,27 \pm 0,26$ g/100g vzorky oproti 3. dňu pokusu. V stehennej svalovine bola v 1. deň pokusu koncentrácia kyseliny mliečnej $0,77 \pm 0,20$ g/100g vzorky. Na 3. deň pokusu bolo zistené zvýšenie kyseliny mliečnej ($0,90 \pm 0,25$ g/100g vzorky), avšak nie tak výrazné ako v prsnej svalovine. V 7. deň pokusu došlo k poklesu kyseliny mliečnej na hodnotu $0,75 \pm 0,14$ g/100g vzorky. Dynamika kyseliny mliečnej v celom časovom intervale zrecieho procesu v mäse odráža kvantitatívnu premenu glykogénu na kyselinu mliečnu. V počiatkovej fáze je jej nárast najvýraznejší (Kopřiva a Steinhauser, 1992). Vyššie koncentrácie v prsnej než stehennej svalovine boli namerané počas celého pokusu, ktoré boli významné ($p \leq 0,001$) na 3. deň, ako aj 7. deň. Korelačný koeficient dosiahol na 7. deň hodnotu $-0,80$.



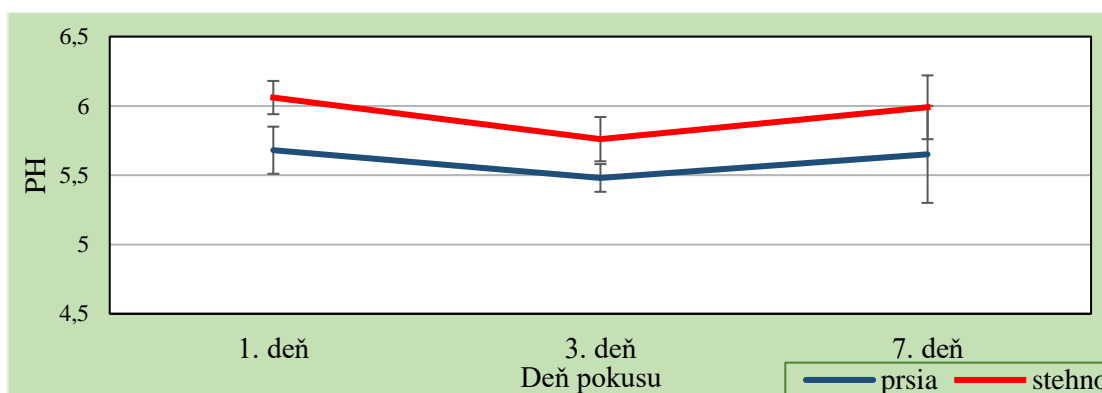
Graf 1: Porovnanie koncentrácií kyseliny mliečnej [g/100g vzorky] v prsnej a stehennej svalovine kurčiat

Pri hodnotení dynamiky zmien fosfátov (Graf 2) v prsnej svalovine bol zistený signifikantný nárast koncentrácie fosfátov ($p \leq 0,001$) na 3. deň ($1,31 \pm 0,32$ g/100g vzorky), oproti začiatku pokusu ($0,62 \pm 0,09$ g/100g vzorky). Na 7. deň bol zistený signifikantný ($p \leq 0,01$) pokles ($0,98 \pm 0,23$ g/100g vzorky) v porovnaní s 3. dňom pokusu. V stehennej svalovine bol nárast fosfátov ($p \leq 0,05$) na 3. deň pokusu menej výrazný ($0,87 \pm 0,33$ g/100g vzorky) v porovnaní so začiatkom pokusu ($0,81 \pm 0,32$ g/100g vzorky). Na 7. deň bol zistený signifikantný pokles ($p \leq 0,05$) fosfátov ($0,70 \pm 0,16$ g/100g vzorky) oproti 3. a 1. dňu pokusu. V prsnej svalovine boli na 1. ($p \leq 0,05$) a na 3. a 7. deň ($p \leq 0,001$) pokusu pozorované vyššie koncentrácie fosfátov. Korelačný koeficient dosiahol na 7. deň hodnotu $-0,83$.



Graf 2: Porovnanie koncentrácie fosfátov [g/100g vzorky] v prsnej a stehennej svalovine kurčiat

Hodnota pH závisí najmä od množstva kyseliny mliečnej v svalovine vznikajúcej pri anaeróbnej glykogenolýze a glykolýze. Hodnota pH 24 klesá *post mortem* na 5,4 – 5,7 (Maltin, a kol., 2003). V našom experimente bol v prsnej svalovine (Graf 3) pozorovaný signifikantný pokles ($p \leq 0,01$) hodnôt pH na 3. deň ($5,48 \pm 0,10$) oproti 1. dňu ($5,68 \pm 0,17$). Na 7. deň bol zistený signifikantný ($p \leq 0,05$) nárast pH ($5,65 \pm 0,35$) oproti 3. dňu. V stehennej svalovine bol zistený signifikantný ($p \leq 0,001$) pokles hodnôt pH na 3. deň ($5,76 \pm 0,16$) oproti 1. dňu ($6,06 \pm 0,12$). Na 7. deň bol zistený signifikantný ($p \leq 0,05$) vzostup pH ($5,99 \pm 0,23$) oproti 3. dňu. V stehennej svalovine boli signifikantne vyššie hodnoty pH na 1., 3. deň ($p \leq 0,001$) a 7. deň ($p \leq 0,01$) než v prsnej svalovine.



Graf 3: Porovnanie hodnôt pH v prsnej a stehennej svalovine brojlerových kurčiat

Záver

Výsledky práce poukazujú na zvýšenie hladín kyseliny mliečnej a fosfátov a zníženie hodnôt pH v prsnej svalovine na 3. deň pokusu. Tento priebeh zmien sa menej výrazne prejavil aj v stehennej svalovine kurčiat. V dôsledku rozdielnych typov svalových vlákien v prsnej a stehennej svalovine brojlerových kurčiat bola v práci pozorovaná rozdielna intenzita postmortálnych zmien na základe zmeraných fyzikálnych a chemických parametrov. Červené vlákna, ktoré sa nachádzajú na stehne sú bohaté na myoglobín a majú väčší počet väčších mitochondrií. Biele vlákna v oblasti prs majú menej myoglobínu a menší počet menších mitochondrií. Známe sú aj ako glykolytické vlákna kvôli vysokému obsahu glykogénu (Barbut, 2002). Z tohto dôvodu predpokladáme, že odlišný priebeh zrecích procesov bol spôsobený metabolickými rozdielmi v premene svaloviny na mäso v týchto typoch svalovín.

Literatúra

- Barbut, S.: Poultry Products Processing, Industry Guide. CRC Press LLC. Florida. 2002, USA.
- Kopřiva, V., Steinhauser, L.: Průběh zrání vakuově baleného masa. Prům. Potr. 1, 1992, s.13-14.
- Koréneková B., Nagy J., Smulders FJM, et al. Lactic acid concentration and pH values in muscles of European brown hare, In: Trends in game meat hygiene, From forest to fork, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, 2014; 400p.
- Maltib, C., Balcerzk, D., Tilley, R., Delday, M.: Determinants of meat quality: tenderness. Proceedings of the Nutrition Society, 62, p. 337-347.
- Squier, S., M.: Poultry science, chicken culture. Rutgers university press New Brunswick., New Jersey, and London, 2011. ISBN 978-0-8135-4924-8. 256 s.

Pod'akovanie

Práca bola vykonaná vďaka finančnej podpore Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-14-0397 a projektom VEGA: 1/0576/17.

Kontaktná adresa

Mgr. Dominika Petriková
UVLF Košice, Katedra hygieny a technológie potravín
Ústav hygieny a technológie mäsa
Komenského 73, 041 81 Košice,
e-mail: Dominika.Petrikova@student.uvlf.sk

Antimikrobiálna rezistencia stafylokokov izolovaných z mäsa bažanta obyčajného (*Phasianus colchicus*)
Antimicrobial resistance of staphylococci isolated from common pheasant (*Phasianus colchicus*)

Regecová, I., Jevinová, P., Pipová, M.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Cieľom práce bolo stanoviť citlivosť u druhovo identifikovaných koaguláza-negatívnych stafylokokových izolátov zo stehennej svaloviny bažanta obyčajného (*Phasianus colchicus*) voči siedmim antibiotikám, a to s použitím agarovej dilučnej metódy.

Kultivačným mikrobiologickým vyšetrením vzoriek mäsa bažanta obyčajného sa získalo 41 izolátov stafylokokov, u ktorých bola pomocou hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF vykonaná druhová identifikácia, na základe ktorej bolo určených 17 kmeňov ako *S. epidermidis*, 8 kmeňov ako *S. warneri*, 5 kmeňov ako *S. haemolyticus*, 4 kmene ako *S. hominis*, 3 kmene ako *S. xylosus*, 2 kmene ako *S. vitulinus*, 1 kmeň ako *S. pasteurii* a 1 kmeň ako *S. arlettae*. U stafylokokových izolátov bola agarovou dilučnou metódou najčastejšie potvrdená rezistencia voči penicilínu. Naopak najväčšia citlivosť bola zaznamenaná voči vankomycínu. U všetkých stafylokokových izolátov bola agarovou dilučnou metódou preukázaná súčasná rezistencia na viac ako jedno testované antibiotikum.

Abstract

The aim of the work was to determine the sensitivity of the species-identified coagulase-negative staphylococcal isolates of common pheasant meat (*Phasianus colchicus*) against seven antibiotics using the agar dilution method.

Cultivation microbiological examination of the samples of common pheasant meat yielded 41 staphylococcus isolates, using a MALDI-TOF mass spectrometry, which determined 17 strains, such as *S. epidermidis*, 8 strains as *S. warneri*, 5 strains as *S. haemolyticus*, 4 strains such as *S. hominis*, 3 strains such as *S. xylosus*, 2 strains such as *S. vitulinus*, 1 strain as *S. pasteurii* and 1 strain as *S. arlettae*. For staphylococcal isolates, penicillin resistance was most often confirmed by the agar dilution method. Conversely, the highest sensitivity was observed for vancomycin. For all staphylococcal isolates, the agar dilution method demonstrated concurrently resistance to more than one antibiotic tested.

Kľúčové slová: *staphylococcus*, *bažant obyčajný*, *antimikrobiálna rezistencia*, *PCR*, *MALDI-TOF*

Úvod

Koaguláza-negatívne stafylokoky (KNS) tvoria hlavnú časť normálnej mikroflóry kože a slizníc (Eiff a kol., 2002). Okrem toho môžu byť rezervoárom génov rezistencie voči antibiotikám, ktoré sú následne prevedené na *S. aureus* (Perreten a kol., 1998). U KNS zároveň dochádza v poslednom období k explozívnomu nárastu rezistencie na antibiotiká. Miera ich rezistencie k antibiotikám sa výrazne líši medzi jednotlivými druhmi stafylokokov. Vysoký podiel rezistentných kmeňov sa vyskytuje najmä

u druhov a poddruhov, ktoré sú najčastejšími pôvodcami nozokomiálnych infekcií (Drozenová a Petráš, 2000).

Práve preto, cieľom práce bolo stanoviť citlivosť u druhovo identifikovaných koaguláza-negatívnych stafylokokových izolátov zo stehennej svaloviny bažanta obyčajného (*Phasianus colchicus*) voči siedmim antibiotikám (penicilín, oxacilín, erytromycín, tetracyklín, ampicilín, gentamicín, vankomycín), a to s použitím agarovej dilučnej metódy.

Materiál a metodika

Vzorky na mikrobiologické vyšetrenie boli odobraté zo stehennej svaloviny 4 vzoriek bažanta obyčajného (*Phasianus colchicus*) pochádzajúcich zo spoločnej poľovačky vo zvernici Účelového zariadenia pre chov a choroby zveri, rýb a včiel UVLF v Rozhanovciach. Z odobratých vzoriek sa základná suspenzia a ďalšie desaťnásobné riedenia sa pripravili podľa pokynov STN EN ISO 6887-2. Z odobratých vzoriek sa stafylokoky izolovali v zmysle pokynov STN EN ISO 6888-1/A1. Všetky izoláty stafylokokov sa podrobili skúmkavkovej plazmokoagulázovej skúške (STAFYLO PK, IMUNA, Šarišské Michaľany) a potvrdeniu príslušnosti k rodu *Staphylococcus* pomocou hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF. Citlivosť jednotlivých izolátov stafylokokov na vybrané antibiotiká sa zisťovala pomocou agarovej dilučnej metódy (CLSI M07-A8, 2009). Získané výsledky boli vyhodnotené podľa kritérií stanovených CLSI (NCCLS) pre mikrodilučnú metódu (CLSI M100-S27, 2017), na základe ktorých boli jednotlivé izoláty zaradené medzi citlivé (C), intermediárne citlivé (I) alebo rezistentné (R).

Výsledky a diskusia

Kultivačným mikrobiologickým vyšetrením vzoriek mäsa bažanta obyčajného sa získalo 41 izolátov stafylokokov. Všetky izoláty boli na základe výsledkov skúmkavkovej plazmokoagulázovej skúšky koaguláza-negatívne. Pomocou hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF bola ďalej u týchto izolátov vykonaná druhová identifikácia, na základe ktorej bolo určených 17 kmeňov *S. epidermidis*, 8 kmeňov 2 kmene *S. vitulinus*, 1 kmeň *S. pasteurii* a 1 kmeň *S. arlettae*. Všetky kmene boli následne podrobené stanoveniu citlivosti voči siedmim antibiotikám pomocou agarovej dilučnej metódy.

Tabuľka 1: Prehľad počtu citlivých (C), intermediárne citlivých (I) a rezistentných (R) izolátov stafylokokov (S.) z mäsa bažanta obyčajného voči penicilínu, oxacilínu a erytromycínu

Druh	Počet izolátov	Penicilín			Oxacilín			Erytromycín		
		R	I	C	R	I	C	R	I	C
<i>S. epidermidis</i>	17	17	0	0	16	0	1	17	0	0
<i>S. warneri</i>	8	7	0	1	6	0	2	8	0	0
<i>S. haemolyticus</i>	5	5	0	0	4	0	1	5	0	0
<i>S. hominis</i>	4	2	0	2	3	0	1	3	0	1
<i>S. xylosum</i>	3	3	0	0	3	0	0	0	2	1
<i>S. vitulinus</i>	2	2	0	0	1	0	1	2	0	0
<i>S. pasteurii</i>	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
<i>S. arlettae</i>	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0

Ako vyplýva z tabuľky 1, u všetkých izolátov *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. vitulinus*, *S. pasteurii* a *S. arlettae* bola zistená rezistencia voči penicilínu a erytromycínu. U kmeňov *S. xylosus* bola potvrdená rezistencia voči penicilínu a oxacilínu, avšak nebola potvrdená rezistencia voči erytromycínu.

Pri hodnotení citlivosti 41 izolátov stafylokokov zo svaloviny bažanta obyčajného voči ďalším štyrom antibiotikám (Tab. 2) bol u kmeňov *S. epidermidis* zaznamenaný najväčší počet izolátov rezistentných voči tetracyklínu, ampicilínu a gentamicínu. U druhov *S. warneri*, *S. haemolyticus* a *S. hominis* bola potvrdená najväčšia rezistencia voči gentamicínu. Ani u jedného z identifikovaných stafylokokových izolátov sa nepotvrdila rezistencia voči vankomycínu.

Tabuľka 2: Prehľad počtu citlivých (C), intermediárne citlivých (I) a rezistentných (R) izolátov stafylokokov (S.) z mäsa bažanta obyčajného voči tetracyklínu, ampicilínu, gentamicínu a vankomycínu

Druh	Počet izolátov	Tetracyklín			Ampicilín			Gentamicín			Vankomycín		
		R	I	C	R	I	C	R	I	C	R	I	C
<i>S. epidermidis</i>	17	15	0	2	15	0	2	15	1	1	0	0	17
<i>S. warneri</i>	8	5	0	3	3	0	5	8	0	0	0	0	8
<i>S. haemolyticus</i>	5	3	0	2	2	0	3	5	0	0	0	0	5
<i>S. hominis</i>	4	2	0	2	1	0	3	3	1	0	0	0	4
<i>S. xylosus</i>	3	3	0	0	3	0	0	3	0	0	0	0	3
<i>S. vitulinus</i>	2	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	2
<i>S. pasteurii</i>	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>S. arlettae</i>	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1

V zmysle interpretačných kritérií pre agarovú dilučnú metódu (CLSI M100-S27, 2017) bola u všetkých 41 kmeňov stafylokokov izolovaných zo stehennej svaloviny bažanta obyčajného potvrdená najčastejšie rezistencia voči penicilínu (38 kmeňov) a naopak najväčšia citlivosť bola zaznamenaná voči vankomycínu (38 kmeňov). U všetkých stafylokokových izolátov (41 kmeňov) bola preukázaná antimikrobiálna rezistencia na dve a viac testovaných antibiotík súčasne. Na podobné skutočnosti poukazujú aj viacerí autori, u ktorých percentuálny podiel výskytu rezistencie a multirezistencie na uvedené antibiotiká je na poprednom mieste. Mártónová a kol. (2008) testovali 138 kmeňov stafylokokov izolovaných zo vzoriek bažanta obyčajného. Touto štúdiou bola potvrdená najväčšia rezistencia voči erytromycínu (48,3%), penicilínu (45,0%) a ampicilínu (41,7%). Všetky stafylokokové izoláty boli citlivé na vankomycín. Al-Thani a Al-Ali (2012) izolovali 90 kmeňov stafylokokov z hospodárskych zvierat žijúcich na rôznych farmách v Katare a následne u nich stanovili percentuálny podiel rezistencie na jednotlivé antibiotiká. Najväčšiu rezistenciu zaznamenali voči penicilínu (66,66%) a naopak 100% -nú citlivosť voči cefalotínu.

Ako vyplýva z našich dosiahnutých výsledkov, u stafylokokových izolátov zo svaloviny bažanta obyčajného sa najčastejšie zaznamenala rezistencia na penicilín a bola tiež preukázaná rezistencia na viac ako jedno antibiotikum.

Záver

Na základe výsledkov našej práce môžeme konštatovať, že prítomnosť rezistentných a multirezistentných stafylokokov u poľovnej zveri je alarmujúci. Výsledky práce

poukazujú aj na častejší výskyt KNS v potravinách, čo poukazuje na stále väčší význam KNS v hygiene potravín. Preto je potrebné podrobne skúmať mechanizmy vývoja a transferu determinantov rezistencie, racionálne užívanie antibiotík, vývoj nových účinnejších antibiotík a tiež pravidelné plošné monitorovanie už existujúcej rezistencie na antibiotiká.

Literatúra

Al-Thani RF, Al-Ali F. Incidences and antimicrobial susceptibility profile of *Staphylococcus* species isolated from animals in different Qatari farms. *Afr J Microbiol Res.* 2012; 48:7454-8.

CLSI document M07 – A8. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard, 8th edn. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA. 2009; 65s.

CLSI document M100 – S27. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-first informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA, USA. 2017; 249s.

Drozenová J, Petráš P. Vlastnosti koagulázo-negatívnych stafylokoků izolovaných z hemokultur. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2000; 49: 51-8.

Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Infect Dis.* 2002; 11:677-85.

Mártonová M, Pipová M, Jevinová P. Antibiotic resistance of staphylococci from hares, pheasants and poultry products in East Slovakia and North-East Austria. *J Food Nutr Res.* 2008; 47:163-9.

Perreten V, Giampa N, Schuler-Schmid U, Teuber M. Antibiotic resistance genes in coagulase-negative staphylococci isolated from food. *System Appl Microbiol.* 1998; 21:113-20.

STN EN ISO 6887-2. Mikrobiológia potravín a krmív. Úprava analytických vzoriek, príprava základnej suspenzie a desaťnásobných riedení na mikrobiologické skúšanie. Časť 2: Špecifické pokyny na úpravu vzoriek mäsa a mäsových výrobkov. SÚTN Bratislava, SR. 2004; 16s.

STN EN ISO 6888-1/A1. Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda stanovenia počtu koagulázopozitívnych stafylokokov (*Staphylococcus aureus* a ďalšie druhy). Časť 1: Metóda s použitím Bairdovho-Parkerovho agarového média. SÚTN Bratislava, SR. 2004; 14s.

Pod'akovanie

Práca bola vykonaná vďaka finančnej podpore z grantovej úlohy VEGA 1/0705/16.

Kontaktná adresa

MVDr. Ivana Regecová, PhD.

UVLF v Košiciach, Katedra hygieny a technológie potravín

Ústav hygieny a technológie mäsa

Komenského, 73, 04181 Košice,

e-mail:ivana.regecova@uvlf.sk

Vplyv vákuového balenia na kolorimetrické parametre bryndze *Effect of vacuum packaging on colorimetric parameters of bryndza cheese*

Semjon, B., Reitznerová, A., Maľová, J., Maľa, P., Mačanga, J., Andrašková, T.
Department of Food Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and
Pharmacy in Košice, Slovak Republic

Súhrn

Slovenská bryndza získala v roku 2008 Chránené Zemepisné Označenie (CHZO). Je to prírodný biely, zrejúci a roztierateľný syr vyrábaný na salašoch, s dlhou tradíciou na území Slovenskej republiky. Senzorická kvalita bryndze je jedným z najdôležitejších atribútov pre jej marketing. V tejto práci sme hodnotili kolorimetrické parametre troch variet bryndze počas skladovania (14 dní) vo vákuových a bez vákuových podmienok pri 4 ± 2 °C. Vo všetkých sledovaných parametroch sme pozorovali štatisticky významné zmeny počas skladovania vzoriek v oboch bez vákuových a vákuových podmienkach ($p > 0,05$).

Abstract

“Slovenská bryndza” obtained “Protected Geographic Indication” designation (PGI) in 2008. It is a naturally white, mature and spreadable cheese made in shepherds’ cottages, with a long tradition on the territory of the Slovak republic. The sensory quality is the most important attribute for the successful marketing of bryndza cheese. In this study were evaluated colorimetric parameters of three bryndza cheese varieties during storage (14 days) in vacuum and non-vacuum packed conditions at 4 ± 2 °C. In all tested parameters were observed statistical significant differences during storage in both vacuum and non-vacuum packed samples ($p > 0.05$).

Kľúčové slova: *kolorimeter, vákuové balenie, bryndza, senzorické hodnotenie*

Introduction

Traditional bryndza cheese is a naturally white, mature and spreadable cheese made in shepherds’ cottages and sheepfolds, with a long tradition in Slovakia. Bryndza cheese is made from ripened sheep lump cheese that can be produced from pasteurized or unpasteurized ewe milk Šaková et al. (2015). It can also be made from matured and salted sheep cheese (min. 50% of contents) which is mixed with fresh lump cow cheese from pasteurized milk European Communities (2007). “Slovenská bryndza” obtained the “Protected Geographic Indication” designation (PGI) in 2008. Regional products have legally protected names and are made by manufacturing technologies used only in certain regions of the European Union (Pirisi et al., 2011; Kawęcka et al., 2014). The quality of bryndza cheese including composition, physicochemical properties and microbial diversity depends on the quality of ewe milk (Chebeňová-Turcovská et al., 2011; Pangallo et al., 2014; Sádecká et al., 2014; Planý et al., 2016). The special taste and textural parameters of traditional cheese specialties could make them popular (Ghazaleh et al., 2014). The aim of this study was to evaluate the instrumental textural and color characteristics related to three bryndza cheese varieties manufactured according to the traditional method of production during storage period under different package conditions.

Material and Methods

To study the quality of bryndza cheese, three consecutive batches from the following bryndza cheese samples were evaluated: BU (bryndza cheese made from 100% sheep lump cheese manufactured from unpasteurized ewe milk), BP (bryndza cheese made from 100% sheep lump cheese made from pasteurized ewe milk) and BM (bryndza cheese made from a mixture (50:50) of sheep lump cheese with lump cow cheese from pasteurized milk). A total of 162 bryndza cheese samples were evaluated in this study. From each bryndza cheese variety (BU, BP and BM) 54 samples were randomly selected on the initial day of manufacture and divided into groups. The first group consisted of 18 samples, which were analyzed before storage period. The second group contained samples ($n = 18$), which were placed in plastic bags (polyethylene, thickness 70 μm , G-PACK, LLC., Slovak Republic) to prevent desiccation, but exposed to normal atmosphere conditions and stored for 14 days at the temperature of $4 \pm 2^\circ\text{C}$ (not vacuum packed - NP). The third group consisted of individually vacuum packaged (VP) samples ($n = 18$) in plastic bags (polyethylene, thickness 70 μm , G-PACK, LLC., Slovak Republic) using Boss Vacuum machine (NE 2746 N, Germany) and stored for 14 days at temperature of $4 \pm 2^\circ\text{C}$. Bryndza cheese samples were analyzed for the surface color of the top slice of the cheese. Color was measured by a Chroma meter CR-410 (Minolta, Osaka, Japan) using CIELAB $L^*a^*b^*$ values (McLaren, 1976). For the measurement of colorimetric data Chroma meter CR-410 (measurement area \varnothing 50 mm, illuminance D65, standard observer angle 2° , Konica Minolta, Sensing, Inc., Japan) and Color Data Software CM-S100w SpectraMagic™ NX (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan, 2014) were used. The Chroma meter was standardized using a white standard plate (CR-A43, Konica Minolta). The results reported are averages of three measurements of each bryndza cheese sample surface.

Results and Discussion

During this experiment, coefficients of variations lower than 10% were observed in all bryndza cheese varieties. Objective expression of color parameters was performed in CIELAB color space. Statistically significant effect of storage under different packaging conditions was found in all bryndza cheese varieties ($p < 0.001$). However, in comparison of bryndza cheese varieties at the initial stage of storage (BS), a statistical difference in L^* parameter ($p > 0.05$) between samples was not observed. Based on our obtained results, we could agree with observations by Eroglu et al. (2015) that the increase of dry matter in cheese can contribute to color changes in non-vacuum packed samples in contrast to vacuum packed samples during storage, where significant differences between non-vacuum packed and vacuum packed samples of cheese were observed. The increase of L^* values in vacuum packed cheese samples was believed to be caused by not losing water in the package during the storage period resulting in conservation of the initial white color during the storage period (Akarca et al., 2015). In their work, Tarakçı and Durmuş (2016) studied effects of packaging materials on color of cheese and found that plastic packaging material caused higher L^* values of the cheese. Their findings correspond to our measurements of color changes during storage of BN, BP and BM bryndza cheese varieties. Microbiota in bryndza cheese is represented also by *Geotrichum candidum* and by other microbial species that can affect sensory properties. Dufossé et al. (2005) studied the ripening process and quality of red smear soft cheeses protected by the Protected Designation of Origin and they reported

that samples in the less colored cheese group, which was partly covered by a downy white *Geotrichum candidum*, were more yellow than red.

Table 1: Results of color analysis of bryndza cheese samples during storage (means \pm SD)

Parameter	Storage	Bryndza cheese varieties		
		BU	BP	BM
L*	BS	91.94 \pm 0.67 ^{Aa}	92.52 \pm 1.72 ^{Aa}	91.66 \pm 0.63 ^{Aa}
	NP	81.13 \pm 6.06 ^{Ba}	86.23 \pm 2.18 ^{Bb}	83.22 \pm 2.03 ^{Bc}
	VP	90.48 \pm 0.55 ^{Aa}	90.74 \pm 0.82 ^{Aa}	93.09 \pm 2.87 ^{Ab}
a*	BS	-2.12 \pm 0.23 ^{Aa}	-2.95 \pm 0.04 ^{Ab}	-1.89 \pm 0.03 ^{Aa}
	NP	-0.21 \pm 0.60 ^{Ba}	-1.61 \pm 0.59 ^{Bb}	-0.32 \pm 0.73 ^{Ba}
	VP	-1.93 \pm 0.12 ^{Aab}	-2.17 \pm 0.27 ^{Ca}	-1.67 \pm 0.22 ^{Ab}
b*	BS	20.13 \pm 2.05 ^{Aa}	18.79 \pm 0.45 ^{Ab}	18.43 \pm 1.20 ^{Ab}
	NP	36.04 \pm 2.11 ^{Ba}	25.80 \pm 1.49 ^{Bb}	27.31 \pm 2.76 ^{Bc}
	VP	18.87 \pm 0.79 ^{Aa}	16.82 \pm 0.60 ^{Cb}	19.42 \pm 1.67 ^{Aa}
C*	BS	20.25 \pm 2.02 ^{Aa}	19.02 \pm 0.44 ^{Aab}	18.53 \pm 1.19 ^{Ab}
	NP	36.05 \pm 2.10 ^{Ba}	25.87 \pm 1.48 ^{Bb}	27.33 \pm 2.76 ^{Bc}
	VP	18.97 \pm 0.78 ^{Aa}	16.96 \pm 0.63 ^{Cb}	19.50 \pm 1.69 ^{Aa}
h*	BS	96.52 \pm 1.20 ^{Aa}	99.24 \pm 0.39 ^{Ab}	96.18 \pm 0.55 ^{Aa}
	NP	90.65 \pm 1.05 ^{Ba}	93.93 \pm 1.40 ^{Bb}	90.92 \pm 1.39 ^{Ba}
	VP	96.09 \pm 0.57 ^{Aa}	97.55 \pm 0.76 ^{Cb}	95.09 \pm 0.32 ^{Cc}

BU - bryndza cheese made from unpasteurised ewe milk; BP - bryndza cheese made from pasteurised ewe milk and starter; BM - bryndza cheese made from unpasteurised ewe milk with addition of cow lump cheese from pasteurised milk (50%); BS - before storage; NP - after the 14th day of storage without packaging; VP - after the 14th day of vacuum packaging storage; ^{A-C} - in a column means (storage conditions) without a common superscript letter differ ($p < 0.05$); ^{a-c} - in a row means (cheese variety) without a common superscript letter differ ($p < 0.05$).

Conclusion

In common, sensory evaluation of food properties, especially appearance is such a subjective opinion of evaluators. On the other hand, analysis of colorimetric parameters is objective method. Instrumental methods of sensory parameters like color or textural parameters are widely used and many times are preferred due to the objective results on analysed samples.

References

- Akarca, G.; Tomar, O.; Gök, V. Effect of different packaging methods on the quality of stuffed and sliced mozzarella cheese during storage. *Journal of food processing and preservation* 2015, 39, 2912-2918.
- Chebeňová-Turcovská, V.; Ženišová, K.; Kuchta, T.; Pangallo, D.; Brežná, B. Culture-independent detection of microorganisms in traditional Slovakian bryndza cheese. *International Journal of Food Microbiology* 2011, 150, 73–78.
- Dufossé, L.; Galaup, P.; Carlet, E.; Flamin, C.; Valla, A. Spectrocolorimetry in the CIE L* a* b* color space as useful tool for monitoring the ripening process and the quality of PDO red-smear soft cheeses. *Food research international* 2005, 38, 919-924.

Eroglu, A.; Toker, O. S.; Dogan, M. Changes in the texture, physicochemical properties and volatile compound profiles of fresh Kashar cheese (< 90 days) during ripening. *International Journal of Dairy Technology* 2015, 69, 243–253.

European Communities, Commission Publication 2007/C 232/10 of an application pursuant to Article 6(2) of Council Regulation (EC) No 510/2006 on the protection of geographical indications and designations of origin for agricultural products and foodstuffs. “Slovenská bryndza” EC No: SK/PGI/005/0427/13.10.2004. Official Journal of the European Union, 2007, *Official Journal of the European Union* 2007, C 232, 17-22.

Ghazaleh, F.; Ezzatpanah, H.; Abbasi, S. Characterization of Siahmazgi cheese, an Iranian ewe's milk variety: Assessment of physico-chemical, textural and rheological specifications during ripening. *LWT- Food Science and Technology* 2014, 58, 335–342.

Kawęcka, A.; Sosin-Bzducha, E. Seasonal changes of the chemical composition of cheese obtained from the milk of indigenous Polish breeds of sheep. *Journal of Animal and Feed Sciences* 2014, 23, 131–138.

McLaren, K. XIII-The development of the CIE 1976 ($L^* a^* b^*$) uniform colour space and colour-difference formula. *Coloration Technology* 1976, 92, 338–341.

Pangallo, D.; Šaková, N.; Koreňová, J.; Puškárová, A.; Kraková, L.; Valík, L.; Kuchta, T.: Microbial diversity and dynamics during the production of May bryndza cheese. *International Journal of Food Microbiology* 2014, 170, 38–43.

Pirisi, A.; Comunian, R.; Urgeghe, P. P.; Scintu, M.F. Sheep's and goat's dairy products in Italy: Technological, chemical, microbiological, and sensory aspects. *Small Ruminant Research* 2011, 101, 102–112.

Planý, M.; Kuchta, T.; Šoltýs, K.; Szemes, T.; Pangallo, D.; Siekel, P. Metagenomic Analysis of Slovak Bryndza Cheese Using Next-Generation 16S rDNA Amplicon Sequencing. *Nova Biotechnologica et Chimica* 2016, 15, 23–34.

Sádecká, J.; Kolek, E.; Pangallo, D.; Valík, L.; Kuchta, T. Principal volatile odorants and dynamics of their formation during the production of May Bryndza cheese. *Food Chemistry* 2014, 150, 301–306.

Šaková, N.; Sádecká, J.; Lejková, J.; Puškárová, A.; Koreňová, J.; Kolek, E.; Valík, L.; Kuchta, T.; Pangallo, D. Characterization of May bryndza cheese from various regions in Slovakia based on microbiological, molecular and principal volatile odorants examination. *Journal of Food and Nutrition Research* 2015, 54, 239–251.

Tarakçı, Z.; Durmuş Y., Effects of packaging materials on some ripening characteristics of Tulum cheese. *Mljekarstvo* 2016, 66, 293-303.

Acknowledgments

This work was supported by the Slovak Research and Development Agency under the contract No. APVV-14-0397 and by the Ministry of Education, Science, Research and Sport of the Slovak Republic under grant KEGA no. 005 UVLF-4/2015.

Contact address

MVDr. Boris Semjon

Department of Food Hygiene and Technology

University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Slovak Republic

e-mail: boris.semjon@gmail.com

Identifikace živočišných druhů v potravinách a krmivech pomocí metody MOL-PCR

Animal species identification in food and feed using MOL-PCR

Servusová, E.^{1,2}, Piskatá, Z.¹, Reslová, N.^{1,3}, Králík, P.^{1,2}

¹Výzkumný ústav veterinárního lékařství Brno, v.v.i., ²Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, ³Masarykova univerzita Brno

Souhrn

Pro identifikaci živočišných druhů v potravinách je nutné použít některou z analytických metod. Tato studie popisuje vývoj multianalytické detekční technologie (xMAP) založené na analýze DNA za účelem ověření správné deklarace živočišných druhů (hovězí, vepřové, kuřecí, kozí nebo ovčí DNA) v potravinách a krmivech. Multiplexní analýza DNA využívá různé sady magnetických mikrokuliček v kapalně suspenzi jako determinanty druhové specifity. Naším cílem bylo navrhnout specifický formát multiplexní oligonukleotidové ligace v kombinaci s PCR (MOL-PCR) pro detekci druhově specifických genetických markerů (RPS7, RPS14, RPS16, mical1). Genomové sekvence byly získány z databáze GenBank a byly vzájemně porovnány pro výběr druhově specifických oblastí pomocí softwaru Bioedit. Specifita navržených molig byla ověřena pomocí systému Blast. DNA byla izolována ze svaloviny pomocí soupravy DNAeasy mericon Food Kit (Qiagen) podle návodu výrobce. Tento multiplexní systém by mohl být rozšířen pro detekci až 50-100 živočišných druhů současně v jedné reakci, čímž představuje významnou inovaci v oblasti identifikace živočišných druhů v potravinách a krmivech. Tato práce byla podpořena projekty QJ1530107, RO0518 a MUNI/A/0816/2017.

Abstract

An analytical approach must be used for the identification of animal species in processed food products. This study described the development of multianalyte detection profiling technology (xMAP) based on DNA analysis for the authentication of animal species (beef, pork, chicken, goat or sheep DNA) in food and feed products. The microsphere-based multiplex nucleic acid assay format uses different sets of magnetic microspheres in a liquid suspension as determiners of analyte specificity. Our aim was to design a specific format of multiplex oligonucleotide ligation PCR assay (MOL-PCR) using the probes (oligonucleotides) targeting species-specific genetic markers (RPS7, RPS14, RPS16, mical1). The whole genome shotgun sequences for individual species were obtained from the GenBank database and were aligned for species-specific regions selection using BioEdit software. The specificity of designed oligonucleotides were checked via Blast system. DNA was isolated from muscles of each species using the DNAeasy mericon Food Kit (Qiagen) according to the manual instructions. This multiplex system could be extended to detect up to 50-100 species simultaneously in one reaction and thus presents major improvement in the field of animal species identification in food and feed products. This work was supported by projects QJ1530107, RO0518 and MUNI/A/0816/2017.

Klíčová slova: *xMAP technologie, bezpečnost potravin, analýza DNA, falšování potravin*

Úvod

Ověřování původu živočišných druhů v potravinách a krmivech je důležité z hlediska dodržování platné legislativy, pro zajištění ochrany zdraví spotřebitelů, a také z důvodů ekonomických a náboženských (Abbas et al., 2018). Metody pro druhovou identifikaci jsou zaměřeny převážně na detekci proteinů nebo molekuly DNA (Prusakova et al., 2018; Izadpanah et al., 2018). Naším cílem bylo vyvinout multiplexní xMAP technologii založenou na analýze DNA pro ověření autenticity potravin a krmiv s deklarovaným obsahem vepřové, kuřecí, hovězí, ovčí nebo kozí svaloviny. Tento systém využívá různé sety magnetických kuliček v tekuté suspenzi jako determinanty specifity (Reslova et al., 2017). V této studii byl navržen specifický formát multiplexní oligonukleotidové ligace v kombinaci s PCR (MOL-PCR) pomocí sond (molig) zaměřených na detekci druhově specifických genetických markerů.

Materiál a metodika

Vzorky, izolace DNA, navrhování molig

Vzorky zmrazené svaloviny byly získány z VFU Brno, Ústav hygieny a technologie masa. DNA byla izolována pomocí komerčního kitu DNAeasy mericon Food Kit (Qiagen, Hilden Německo). Z databáze genových sekvencí (GenBank) byly vybrány sekvence genomové DNA (RPS7, RPS14, RPS16, mical1) příslušných druhů (skot, prase, koza, ovce, kuře), které byly porovnány pomocí softwaru Bioedit za účelem nalezení vhodných druhově odlišných oblastí. Byly navrženy druhově specifické sondy (moliga), které byly syntetizovány v Generi Biotech (Hradec Králové, ČR).

Princip MOL-PCR

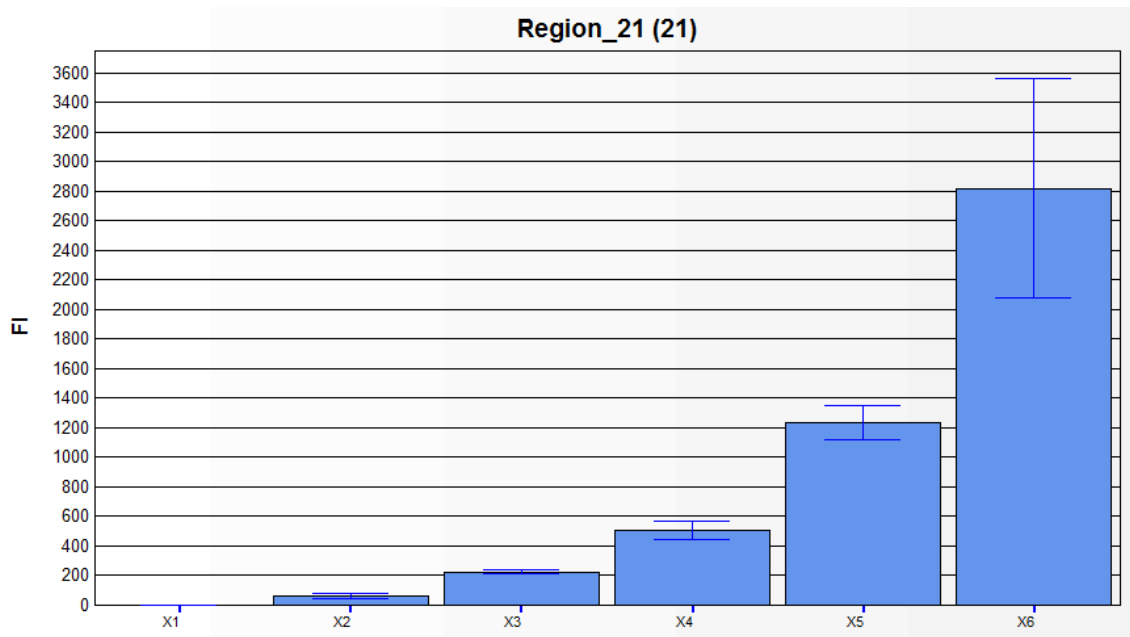
Jedna detekční sonda (moligo) se skládá ze sekvence komplementární k cílové sekvenci, dále obsahuje TAG sekvenci a vazebné místo pro univerzální primer. Druhá sonda obsahuje sekvenci, která je komplementární k cílové sekvenci, ale neobsahuje TAG sekvenci. Každý pár molig je specifický pro příslušnou cílovou sekvenci, ale všechny páry obsahují totožné univerzální primery. Při ligaci nasednou detekční sondy na cílovou sekvenci, která dále slouží jako templát pro PCR s univerzálními primery (jeden z nich je fluorescenčně označen). Následuje hybridizace produktu MOL-PCR s magnetickými kuličkami a po přidání analyzačního pufru vlastní analýza v přístroji MagPix.

Potahování magnetických kuliček

Anti-TAGy se kovalentně váží na MagPlex magnetické kuličky (Luminex Corporation, TX, USA). Anti-TAG je sekvence komplementární k TAG sekvenci, která je zakomponována v detekční sondě (moligo). Pro každý cíl z multiplexu musí být použit jiný set magnetických koulí.

Výsledky a diskuze

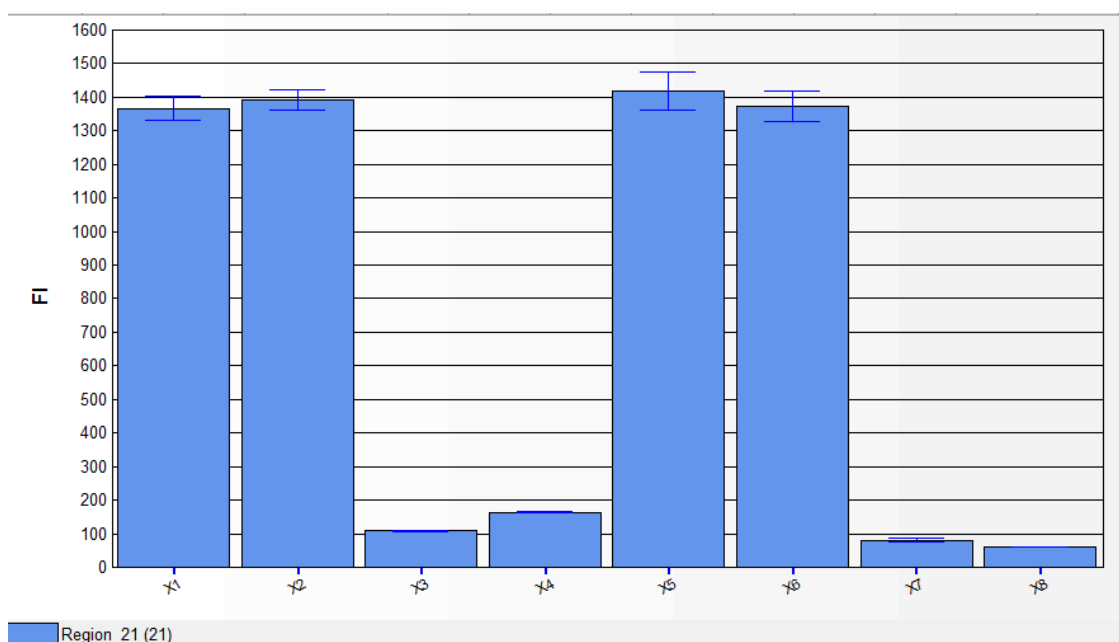
Pomocí hybridizačního testu byla provedena validace magnetických kuliček. K ověření se použily validační TAGy (sekvence je stejná jako v sondě), které jsou na 5'konci značeny fluoroforem BODIPY a jsou komplementární k antiTAGu, který je navázán na magnetických kuličkách. Správná párovací reakce se projeví rozdílnými hodnotami MFI (median fluorescence intensity) mezi kuličkami saturovanými validačními TAGy a kuličkami inkubovanými bez validačních TAGů (Obr. 1).



Obrázek 1: Validace magnetických kuliček (region 21 prase *Sus scrofa*)

Pozn. X1 – 0 μ l TAG, X2 – 0.5 μ l TAG, X3 – 1 μ l TAG, X4 - 2 μ l TAG, X5 - 5 μ l TAG, X6 - 10 μ l TAG.

Na základě porovnání genomových sekvencí více než 20 živočišných druhů byla navržena moliga pro detekci pěti živočišných druhů (kuře, prase, kráva, ovce, koza) v potravinách a krmivech. Následně byl sestaven a optimalizován MOL-PCR systém (ligace, PCR, hybridizace, analýza v přístroji MagPix). Při zpracování dat a interpretaci výsledků se vychází ze schématu: P (pozitivní vzorek) = MFI vzorku/ MFI negativní kontroly (u pozitivního vzorku je hodnota > 4), zároveň MFI pozitivního vzorku by měla být > 400 (Obr. 2, Tab. 1).



Obrázek 2: Detekce DNA prasete (*Sus scrofa*) pomocí oligonukleotidových sond

Tabulka 1: Zpracování dat a interpretace výsledků

Jamka	Vzorek	Region 21 (MFI)	Vyhodnocení
A1	X1	1340.5	+
B1	X2	1412	+
C1	X3	110	-
D1	X4	165	-
E1	X5	1458.5	+
F1	X6	1406	+
G1	X7	86	-
H1	X8	60	-

Závěr

Tato studie prezentuje vývoj nové xMAP technologie, která může být použita pro identifikaci pěti živočišných druhů v potravinách a krmivech. Multiplexní MOL-PCR systém je možné rozšířit na simultánní detekci 50-100 živočišných druhů v jedné reakci, čímž představuje významnou inovaci v oblasti detekce falšování potravin.

Literatura

Abbas, O., Zadavec, M., Baeten, V., Mikus, T., Lesic, T., Vulic, A., Prpic, J., Jemersic, L., Pleadin, J. Analytical methods used for the authentication of food of animal origin. *Food Chemistry*, Oxford, England: Elsevier Sci Ltd., 2018, č. 246, s. 6-17. ISSN 0308-8146.

Izadpanah, M., Moheballi, N., Elyasi gorji, Z., Farzaneh, P., Vakhshiteh, F., Fazeli, A.S. Simple and fast mutliplex PCR method for detection of species origin in meat products. *Journal of Food Science and Technology*, New Dehi, India: Springer India, 2018, č. 55, s. 698-703. ISSN 0022-1155.

Prusakova, O.V., Glukhova, X.A., Afanas'eva, G.V., Trizna, Y.A., Nazarova, L.F., Beletsky, I.P. A simple and sensitive two-tube mutliplex PCR assay for simultaneous detection of ten meat species. *Meat Science*, Oxford, England: Elsevier Sci Ltd., č. 137, s. 34-40. ISSN 0309-1740.

Reslova, N., Michna, V., Kasny, M., Mikel, P., Kralik, P. xMAP Technology: Application in detection of pathogens. *Frontiers in Microbiology*, Lausanne, Switzerland: Frontiers Media SA, 2018, č. 55. ISSN 1664-302X.

Poděkování

Tato práce byla podpořena MZe ČR (projekty QJ1530107 a RO0518) a institucionální podporou Masarykovy univerzity (MUNI/A/0816/2017).

Kontaktní adresa

MVDr. Zora Piskatá, Ph.D.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.

Oddělení bezpečnosti potravin a krmiv

Hudcova 70, 621 00 Brno

e-mail: piskata@vri.cz

**Porovnanie vhodnosti použitia varených vajec v náleve
a pasterizovanej vaječnej hmoty pri výrobe vajcového šalátu
a vajcových nátierok s majonézou**
*Comparison of the suitability of hard boiled eggs in brine and pasteurized
egg mass use for the production of mayonnaise egg salad and mayonnaise
egg spread*

Ševelová, M., Golian, J.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

V práci boli porovnané vzorky vajcového šalátu a nátierok vyrobených z varených vajec v náleve a z pasterizovanej vaječnej hmoty. Vzorky výrobkov, ktoré boli použité na výskum pochádzali z výrobného závodu spoločnosti Ryba Žilina, spol. s.r.o. Vzorkami boli hotové, zabalené šaláty, ktoré sa bežne expedujú do obchodných reťazcov. Hodnotenú boli analytické, mikrobiálne a senzorické parametre výrobkov. Analytické parametre kyslosť, soľ a pH boli stanovené použitím automatického titrátora TitroLine TL 6000/ 7000. Mikrobiologický rozbor vzoriek bol vykonaný použitím petrifilmov 3MTM PetrifilmTM. Pri výskume bolo analyzovaných 24 vzoriek.

Abstract

In this research, samples of egg salad made from hard boiled eggs in brine and pasteurized egg mass were compared. Samples of products used for research came from the production plant of Ryba Žilina, Ltd. The samples were finished packed salads, which are normally shipped to retail chains. The analytical, microbial and sensory parameters of the products were evaluated. pH were determined using the TitroLine TL 6000/7000, automatic titrator. Microbiological analysis of the samples was performed using 3MTM PetrifilmTM petrifilms. 24 samples were analyzed.

Keywords: *eggs, mayonnaise salad, analysis, comparison, pasteurized egg mass, hard boiled eggs in brine*

Úvod

Celosvetová produkcia vajec sa v posledných desaťročiach zvýšila, v roku 2009 presiahla 64 miliónov ton [URL 1]. Zvýšenie celosvetovej produkcie a spotreby vajec je racionálne, pretože vaječné bielkoviny majú vynikajúcu kvalitu a nízke hospodárske náklady, pričom veľký dopyt po bielkovinových zdrojoch je v rozvojových krajinách, v ktorých žije tretina obyvateľstva (Wimalawansa, 2013). Dôležitým faktorom, ktorý by v blízkej budúcnosti mohol zvýšiť spotrebu vajec, je skutočnosť, že typické faktory moderného života, ako je časté cestovanie, zaneprázdnenosť, málo času na varenie a jedenie doma, zohrávajú dôležitú úlohu pri zvyšovaní spotreby predvarených a spracovaných potravín (Brewer et al., 2008). Keďže vajcia sú bežnými prísadami používanými v potravinárskom priemysle na zahustenie, tvorbu gélov, penivosť, zafarbenie a arómu, očakáva sa, že celosvetová spotreba vajec obsiahnutých v potravinárskych výrobkoch sa v nasledujúcich rokoch zvýši (Rossi et al., 2010). Napriek uvedeným výhodám je konzumácia vajec tradične spojená s nepriaznivými faktormi pre ľudské zdravie a výživu. Okrem rizík súvisiacich s výživou môže

konzumácia vajec predstavovať aj riziko pre spotrebiteľov vyplývajúce z iných faktorov, ako je ich mikrobiologický stav. *Salmonella* - sérovary *Enteritidis* a *Typhimurium*, sú zodpovedné za väčšinu chorôb prenášaných potravinami spojených so spotrebou vajec a vaječných produktov v Európe (Rakonjac et al., 2014).

Vajcia sa používajú pri výrobe mnohých pokrmov. Medzi najznámejšie patria majonézy a majonézové omáčky. Majonéza je definovaná ako studená omáčka zložená z oleja, vody, octu a ochucovadiel. Emulgátorom je vaječný žĺtok. Na tvorbe emulzie sa najviac podieľajú fosfolipidy, ktoré sú v komplexe s proteínmi v žĺtku. Stabilita emulzie je ovplyvnená typom použitého výrobníka a hodnotou pH (Simeonovová et al., 1999).

Medzi vaječné výrobky sa zaraďujú aj varené, lúpané, konzervované vajcia, ktoré sa vyrábajú uvarením, olúpaním a naložením do konzervačného nálevu. Dobu životnosti majú približne 1 mesiac a sú používané predovšetkým ako polotovar v lahôdkarskom priemysle (URL 2).

Tepelne ošetrované výrobky z vajec sú z mikrobiologického hľadiska bezpečnejšie, lacnejšie, ľahšie skladovateľné a kvôli tepelnému ošetrovaniu sú v niektorých prípadoch menej alergénne ako čerstvé vajcia. Výrobky z vajec získané technologickými metódami sú preto veľmi zaujímavou možnosťou pre výrobcov potravín (Miranda et al, 2015).

Materiál a metodika

Analyzované vzorky výrobkov pochádzali z výrobného závodu vyrábajúceho lahôdkarske výrobky. Výrobky na testovanie boli odobraté priamo z výrobných linky po zabalení, a až do vykonania analýz boli skladované pri teplote 1 až 6 °C.

V práci boli porovnávané štandardné výrobky, vyrábané podľa schválených receptúr z varených vajec v náleve so vzorkami výrobkov, ktoré boli vyrobené rovnakým technologickým postupom, kde ako náhrada varených vajec v náleve bol použitý pasterizovaný vaječný bielok a pasterizovaný vaječný žĺtok, v pomere 70:30.

pH bolo stanovené použitím pH elektródy automatického titrátora TitroLine TL 6000/7000.

Pre mikrobiologický rozbor vzoriek boli použité petrifilmové 3M™ Petrifilm™

Petrifilmové boli inokulované 1 ml nariadeného roztoku vopred zhomogenizovanej vzorky a inkubované v termostate pri teplote 22°C, po dobu 5 dní pre stanovenie mikroskopických vláknitých húb a kvasiniek; pre stanovenie koliformných baktérií a *E. Coli* boli petrifilmové inkubované pri teplote 37°C po dobu 48 hodín. Následne boli vyrastené kolónie spočítané na základe indikátorov, ktoré sfarbili vyrastené kolónie.

Senzorické hodnotenie prebiehalo v laboratórnych podmienkach, za splnenia všetkých požiadaviek na prostredie hodnotiteľskej miestnosti. Senzorickej analýzy sa zúčastnilo 5 hodnotiteľov, 2 pracovníci laboratória a 3 certifikovaní hodnotitelia na základe platného certifikátu spôsobilosti pre senzorické posudzovanie potravinárskych a poľnohospodárskych výrobkov vydaným Štátnym veterinárnym a potravinovým ústavom v Bratislave.

Výsledky

V tabuľke 1 a 2 sú uvedené mikrobiologické parametre vajcového šalátu a nátierok od začiatku doby spotreby, počas doby spotreby a na konci doby spotreby vzoriek výrobkov.

Označenie vzoriek:

Vajíčková nátierka A	Vzorka 1
Vajíčková nátierka B	Vzorka 2
Vajíčkový šalát C	Vzorka 3

Tabuľka 1: Parametre vajcového šalátu a nátierok vyrobených z varených vajec v náleve

Hodnotené parametre	Na začiatku doby spotreby			Počas doby spotreby			Na konci doby spotreby		
	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3
pH	4,64	4,95	4,33	4, 68	4,88	4, 41	4,72	5,03	4,49
Koliformné baktérie (KTJ.g ⁻¹)	70	30	10	20	50	10	60	80	20
<i>E. coli</i> (KTJ.g ⁻¹)	Neprítomné	Neprítomné	Neprítomné	Neprítomné	Neprítomné	Neprítomné	Neprítomné	Neprítomné	Neprítomné
Kvasinky (KTJ.g ⁻¹)	100	60	80	110	130	90	80	150	60
Mikroskopické huby (KTJ.g ⁻¹)	10	10	N	20	10	20	30	30	20

Tabuľka 2: Parametre vajcového šalátu a nátierok vyrobených z pasterizovanej vaječnej hmoty

Hodnotené parametre	Na začiatku doby spotreby			Počas doby spotreby			Na konci doby spotreby		
	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3	Vzorka 1	Vzorka 2	Vzorka 3
pH	4,88	5,01	4,61	4,68	4,92	4, 53	4,74	4,89	4,57
Koliformné baktérie (KTJ.g ⁻¹)	60	10	30	10	30	20	30	10	N
<i>E. coli</i> (KTJ.g ⁻¹)	Neprítomné	Neprítomné	Neprítomné	Neprítomné	Neprítomné	Neprítomné	Neprítomné	Neprítomné	Neprítomné
Kvasinky (KTJ.g ⁻¹)	110	60	100	30	50	130	90	120	110
Mikroskopické huby (KTJ.g)	N	10	N	N	10	N	N	N	N

Senzorické hodnotenie

Vzorky šalátov a nátierok vyrobených z varených vajec v náleve boli štandardné, bez cudzej chuti a vône, primerane sfarbené do svetložltej farby, konzistenčne vyhovujúce. Vzorky šalátov a nátierok vyrobených z pasterizovanej vaječnej hmoty, boli chuťovo vyhovujúce, vôňa bola menej výrazná v porovnaní so vzorkami vyrobenými z varených vajec, bez cudzích zápachov. Vzorky vyrobené z kombinácie pasterizovaného vaječného bielka (70 %) a pasterizovaného vaječného žltka (30 %) boli farebne nevyhovujúce, mali neprirodzene bielu farbu, nakoľko po obalení komponentov majonézou zanikla farba žltka.

Porovnaním mikrobiologických výsledkov vzoriek všetkých troch výrobkov na začiatku doby spotreby sme zistili, že výsledky analýz pre vzorky a štandardne vyrábané výrobky boli porovnateľné vo všetkých hodnotených parametroch.

Skúmaním výsledkov rozborov počas doby spotreby sa ukázalo, že 2 vzorky z 3, vyrobené z pasterizovanej vaječnej hmoty boli negatívne na prítomnosť mikroskopických vláknitých húb, pričom u štandardne vyrábaných výrobkov boli mikroskopické vláknité huby detegované vo všetkých troch výrobkoch.

Hodnotením vzoriek a štandardných výrobkov na konci doby spotreby bolo zistené, že všetky vzorky, pri výrobe ktorých bola použitá pasterizovaná vaječná hmota boli negatívne na prítomnosť mikroskopických vláknitých húb, pričom vo všetkých troch vzorkách štandardných výrobkov bola prítomnosť mikroskopických vláknitých húb potvrdená. V ostatných hodnotených mikrobiologických parametroch na začiatku doby spotreby, počas doby spotreby a na konci doby spotreby boli vzorky a štandardne vyrábané výrobky porovnateľné. Analytickým hodnotením bolo zistené, že nátierky mali pH vyššie ako 4,5 už na začiatku doby spotreby, čo je alarmujúce. Nakoľko pomer pasterizovaného vaječného bielka a žltka spôsobil nevyhovujúcu farbu vzoriek výrobkov, bolo by vhodné zvýšiť podiel žltka, čo by však pri zavedení do praxe spôsobilo nárast ceny.

Konzistenčne boli porovnávané vzorky výrobkov vyrobených z pasterizovanej vaječnej hmoty hustejšie, čo bolo pravdepodobne spôsobené tým, že varené vajcia sa pred spracovaním zbavujú nálevu a oplachujú studenou pitnou vodou, a pred spracovaním neboli dostatočne odtečené.

Diskusia

Seuss-Baum (2005) uvádza, že vajcia sú výborným, lacným a málo kalorickým zdrojom vysokokvalitných bielkovín a tukov ako sú fosfolipidy a nenasýtené mastné kyseliny. Ich priemerná energetická hodnota sa pohybuje okolo 340 kJ. Obsah celého vajca je stráviteľný na 95 - 98 % a vaječných bielkovín až 89 % (Čuboň et al., 2009).

Podľa Goliana (2000) sú vajcia najkvalitnejšie v čerstvom stave, bezprostredne po znáške. S pribúdajúcimi dňami od momentu znášky dochádza k ich starnutiu, ktoré sprevádzajú zmeny kvality – fyzikálne, mikrobiologické, chemické a morfológické. Intenzita zmien závisí od podmienok skladovania vajec, najmä od teploty, relatívnej vlhkosti a rýchlosti prúdenia vzduchu. Čím optimálnejšie sú skladovacie podmienky, tým pomalšie je starnutie vajec (Nagy et al., 2009).

Niektoré potraviny majú prirodzené bariéry alebo krycie vrstvy, ktoré poskytujú rôzne úrovne ochrany pred vonkajšou kontamináciou. Medzi tieto bariéry patria bežné škrupiny, plášte a membrány na potravinách, ako sú orechy, vajcia, zelenina, ovocie. Účinnosť týchto prekážok zabrániť kontaminácii potravín sa značne líši a v niektorých prípadoch môže skutočne uľahčiť mikrobiálny rast, najmä ak je prirodzená ochrana vo forme škrupín poškodená počas zberu. Slepacie vajcia sú typicky sterilné, ale silne kontaminované na povrchu, takže akékoľvek poškodenie škrupiny umožňuje mikroorganizmom kontaminovať ich vnútorný obsah (URL 3).

Vaječný obsah môže byť kontaminovaný dvojakým spôsobom. Kontaminácia endogenného pôvodu je menej častá, zdrojom kontaminácie je chorá nosnica. Druhým prípadom je exogénna kontaminácia vajec mikroorganizmami prenikajúcimi z vonkajšieho prostredia cez prirodzené ochranné mechanizmy vajec (Engelmaierová et al., 2010).

Na povrchu relatívne čistej škrupiny sa nachádza priemerne 100 000 baktérií a 200 - 500 spór mikroskopických vláknitých húb. Ich obsah kolíše a závisí predovšetkým od čistoty prostredia, spôsobu chovu a od manipulácie s vajcami (Golian, 2000).

Celé varené vajcia v náleve sa používajú ako zložka ďalších potravinových výrobkov alebo sú predávané ako jedlá na priamu spotrebu (Fang a Huang, 2014).

Vyrábajú sa varením škrupinových vajec vo vode, po ktorom nasleduje okamžité chladenie, lúpanie a balenie v konzervačnom roztoku, ktorý znižuje prevalenciu patogénnych mikroorganizmov (Sanovo Technology Group, 2016). Počas spracovania môže dôjsť k rekontaminácii vajec v dôsledku nesprávnej manipulácie alebo z prostredia (Kim et al., 2015).

Prepuknutie salmonelózy v súvislosti s konzumáciou vajec a vaječných výrobkov je celosvetovým problémom. (Lee, Seo, 2017). V roku 2012 boli vajcia a vaječné výrobky hlásené ako najvýznamnejšie potraviny spojené s 45,2 % z 347 prípadov prepuknutia salmonelózy v Európe (EFSA a ECDC, 2014), kde *Salmonella enteritidis* bola hlavným patogénom (Baron et al., 2016).

Riziko kontaminácie vajec *Salmonella*, sp. zostáva hlavným problémom bezpečnosti potravín počas výroby vajec (Baron et al., 2016).

Záver

Cieľom práce bolo zvýšiť bezpečnosť a zjednodušiť technologický postup výroby lahôdkarských výrobkov vyrobených z vajec, nakoľko kontaminácia vajec a vaječných škrupín salmonelou bola identifikovaná ako problém verejného zdravia na celom svete. Zmena v spotrebiteľských preferenciách ovplyvnila odvetvie výroby vajec a produktov z nich, a pasterizácia bola identifikovaná ako jediná účinná metóda na kontrolu salmonely a je nevyhnutná pre ochranu spotrebiteľov. Preto bola ako náhrada varených vajec v náleve vo výrobkoch testovaná pasterizovaná vaječná hmota. Rozbory ukázali, že z hľadiska mikrobiologickej bezpečnosti by pasterizovaná vaječná hmota mohla byť vhodnou náhradou varených vajec v náleve. Použitím pasterizovanej vaječnej hmoty sa zlepšila aj konzistencia šalátu. Pri porovnaní výrobkov a vzoriek na konci doby spotreby, šalát vyrobený z varených vajec v náleve bol výrazne redší ako šalát vyrobený z pasterizovanej vaječnej hmoty. U nátierok nebola pozorovaná výrazná zmena v konzistencii. Navýšenie podielu pasterizovaného vaječného žĺtka by malo za následok zvýšenie výrobných nákladov výrobkov.

Literatúra

Brewer, M. S., Rojas, M. 2008. Consumer attitudes toward issues in food safety. In: *Journal of Food Safety*. 28:1–22.

Miranda, M. J., et al. 2015. Egg and Egg-Derived Foods: Effects on Human Health and Use as Functional Foods. In: *Journal list – Nutrients*. 7(1): 706–729

Pokorný, J. 1993. Metody senzorické analýzy potravín a stanovení senzorické jakosti. ÚZPI Praha, 1993, 196 s. ISBN 80-85120-34-8.

Rakonjac, S., et al. 2014. Laying hen rearing systems: A review of major production results and egg quality traits. In: *World of Poultry Science Journal*. 70:93–104.

Rossi, M., et al. 2010. Functional properties of pasteurized liquid whole egg products as affected by the hygienic quality of the raw eggs. In: *Journal of Food Science and Technology*. 43:436–441.

- Simeonovová, J., et al. 1999. Technologie drůbeže, vajec a minoritních živočišných produktů. Brno: Ediční středisko MZLU Brno, 247 s. ISBN 80- 7157-405-8.
- URL 1. International Egg Commission The Egg Industry. 2010. Dostupné na: [<https://www.internationalegg.com/corporate/eggindustry/index.asp>].
- URL 2. Saláková, A. Hygiena a technologie drůbeže, vajec a zvěřiny. 2014. Dostupné na: [<http://fvhe.vfu.cz/informace-o-fakulte/sekce-ustavy/uhtms/vyuka/skripta/hygiena-a-technologie-drubeze-vajec-a-zveriny.pdf>].
- URL 3. Validation of Product Shelf – life. 2017. Dostupné na: [<https://www.scribd.com/document/353491519/Validation-of-Product-Shelf-life>].
- Wimalawansa, S. J. 2013. Rational food fortification programs to alleviate micronutrient deficiencies. In: *Journal of Food Processing and Technology*. 4:257–267.
- Golian, J. 2000. Hygiena potravin. Nitra: SPU, 2000.198 s. ISBN 80-7137-733-3.
- Čuboň, J., et al. 2009. Vplyv podávania biologicky účinných látok na technologické a nutričné vlastnosti vybraných produktov živočíšneho pôvodu. Nitra : SPU. 1 vyd., 2009. s. 89- 99. ISBN 978-80-552-0291-4.
- Engelmaierová, M., et al. 2010. Penetrace mikroorganismů do vejce II. In: *Veterinářství*. roč. 10., č. 4., 2010. s. 213 – 215.
- Nagy, J. et al. 2009. Hygiena a technológia hydiny a vajec. 1. vyd. Košice: Edičné stredisko Univerzity veterinárskeho lekárstva, 2009. 371 s. ISBN 978-80-8077-132-4.
- SEUSS-BAUM, I. 2005. Nutritional evolution of egg components. XIth European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products Doorwerth. Netherlands. 2005.
- Fang, T., Huang, L. H. 2014. Growth and survival kinetics of *Listeria monocytogenes* in cooked egg whites. In *Food Control*, 36, 191–198.
- EFSA (European Food Safety Authority), & ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). 2014. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. In: *EFSA Journal*, 12(2), 3547. Dostupné na: [<http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3547>].
- Baron, F., et al. (2016). Egg white versus *Salmonella Enteritidis*! A harsh medium meets a resilient pathogen. In: *Food Microbiology*, 53, 82–93.
- Kim, Y., et al. 2015. Traceback investigation for *Salmonella* sp. contamination at egg processing plants in South Korea: Prevalence, antibiotic resistance, and epidemiological tracing by rep-PCR fingerprinting. In: *Journal of Food Science*, 80, 759–764.
- Lee, S. K., Seo, K. H. 2017. Egg production systems and *Salmonella* sp.in Korea. In C. R. Steven, K., Richard, G. (Eds.). *Producing Safe Eggs. Microbial Ecology of Salmonella*.
- Sanovo Technology Group (2016). Hard-boiled eggs. Dostupné na: [<http://www.sanovogroup.com/products/egg-processing/hard-boiled-egg/>]. Accessed date: 15 February 2017.

Kontaktná adresa

prof. Ing. Jozef Golian, Dr.
 Katedra hygieny a bezpečnosti potravin
 FBP SPU v Nitre
 Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
 e-mail: Jozef.Golian@uniag.sk

Význam počtu somatických buniek v mlieku pri diagnostike mastitíd bahníc

The importance of somatic cell count in mastitis diagnostic in ewes

Tančin^{1,2}, V., Tvarožková², K., Holko³, I., Uhrinčat¹, M., Mačuhová¹, L., Vršková¹, M., Oravcová¹, M.

¹NPPC - Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra,

²Slovenská poľnohospodárska univerzita, KVD-FAPZ, Nitra,

³VETSERVIS, s.r.o., Kalvária 3, 949 01 Nitra

Súhrn

Práca sa venovala problematike diagnostiky subklinických mastitíd na základe počtu somatických buniek (PSB) v mlieku, kde cieľom bolo zistiť či vysoký PSB súvisí s prítomnosťou patogénu v mliečnej žľazy bahníc. Pokus sa realizoval na dvoch farmách oviec chovajúcich plemeno Lacaune. Odber vzoriek mlieka na každej farme sa uskutočnil v dvoch termínoch – marec a jún v roku 2018 počas večerného dojenia. Celkovo bolo odobraných 202 vzoriek mlieka z polovic vemená na analýzu PSB a bakteriologického vyšetrenia na prítomnosť mastitídnych mikroorganizmov od 101 bahníc. Na základe PSB boli bahnice rozdelené do piatich tried: do $0,2 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0,2-0,4 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0,4-0,6 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0,6-10^6 \text{ ml}^{-1}$; nad 10^6 ml^{-1} . V prvej kategórii PSB sa nachádzalo až 61,88 % vzoriek mlieka, v druhej 5,45 %, tretej 3,46 %, štvrtej 2,97 % a v piatej 26,24 %. Výrazný bol vplyv farmy, kde na farme 1 bolo zaradených do prvej PSB triedy 81,00 % a do poslednej 9 % vzoriek mlieka pričom na farme 2 do prvej aj poslednej triedy bolo zaradených zhodne 43,14 %. Zistili sa vyššie hodnoty PSB v kontaminovaných vzorkách ($\log_x 5,78 \pm 0,10 \text{ ml}^{-1}$) v porovnaní s nekontaminovanými ($\log_x 4,86 \pm 0,07 \text{ ml}^{-1}$, $P < 0,001$). Izolované boli dva dôležité infekčné mastitídne patogény s veľmi nízkou frekvenciou výskytu: *Staphylococcus (S) aureus* (3,70 %) a *Streptococcus (Str.) agalactiae* (1,23 %). Najčastejšie sa vyskytovali koaguláza negatívne stafylokoky (CoNS), a to *S. chromogenes* (44,44 %), *S. epidermidis* (39,51 %), *S. xylosus* (22,22 %), ďalej nasledovali *Candida* sp. (2,47 %), *Klebsiella oxytosa* (2,47 %) a *Str. dysagalactiae* (1,23%). Záverom môžeme konštatovať, že sledovanie počtu somatických buniek v mlieku je vhodným zootechnickým ukazovateľom v chove dojných bahníc.

Abstract

The paper dealt with the subclinical mastitis diagnosis based on the number of somatic cells (SCC) in milk, where the goal was to determine whether high SCC is related to the presence of pathogen in the mammary gland of the milk. The experiment was carried out on two farms of sheep breeding Lacaune. Sampling of milk samples on each farm took place in two dates - March and June in 2018 during evening milking. A total of 202 samples of milk were taken from udder halves for analysis of SCC and bacteriological examination for the presence of mastitis microorganisms from 101 ewes. Based on SCC, ewes were divided into five categories: up to $0.2 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0.2-0.4 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0.4-0.6 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0.6 - 10^6 \text{ ml}^{-1}$; over 10^6 ml^{-1} . In the first category of SCC there were 61.88% of milk samples, in the second 5.45%, third 3.46%, fourth 2.97% and in the fifth 26.24%. The impact of the farm was marked, where the farm was included in the first SCC class of 81.00% and in the last 9% of the milk samples on farm 1, while in farm 2 the first and the last class were 43.14%. Higher SCC

values were found in contaminated samples ($\log_{10} 5.78 \pm 0.10 \text{ ml}^{-1}$) compared with uncontaminated ($\log_{10} 4.86 \pm 0.07 \text{ ml}^{-1}$, $P < 0.001$). Two important infectious mastitis pathogens with very low occurrence rates were isolated: *Staphylococcus (S) aureus* (3.70%) and *Streptococcus (Str.) agalactiae* (1.23%). More frequently were isolated Coagulase negative staphylococci (CoNS), *S. chromogenes* (44.44%), *S. epidermidis* (39.51%), *S. xylosus* (22.22%), followed by *Candida* sp. (2.47%), *Klebsiella oxytosa* (2.47%) and *Str. dysagalactiae* (1.23%). We conclude that monitoring the somatic cells counts in milk is a suitable zootechnical indicator in dairy ewes breeding.

Kľúčové slová: ovce, mlieko, somatické bunky, mastitídne patogény

Úvod

V súčasnom období sa aplikovaný výskum v oblasti kvality ovčieho mlieka zameriava na štúdium vzťahov medzi prítomnosťou mastitídnych patogénov a počtom somatických buniek (PSB) v mlieku individuálnych bahníc. Hlavným problémom je špecifikovať fyziologické limity počtu PSB v mlieku zdravej bahnice. Uvádza sa, že za fyziologickú hranicu je možné považovať rozpätie od $0,25$ do $1,0 \times 10^6$ buniek. ml^{-1} (Gonzalo a Gaudioso Lacasa, 1985), pričom autori navrhovali pre zdravé vemeno $0,5 \times 10^6$ buniek. ml^{-1} . V našej štúdií sme pri plemene Lacaune zistili, že až 54 % bahníc malo PSB pod $0,2 \times 10^6$ buniek. ml^{-1} pričom nad 1×10^6 buniek. ml^{-1} malo 22 % (Tančin et al., 2017). Aj napriek diskusiám o príčinách vysokého PSB v mlieku bahníc z dôvodu nízkej spojitosti medzi vysokým PSB a prítomnosťou patogénu (Hariharan et al., 2004), Fthenakis (1994) označil ovce so subklinickou mastitídou za ovce s PSB nad 1×10^6 buniek. ml^{-1} súčasne s počtom KTJ jedného mikroorganizmu nad 10 zo vzorky 0,01 ml. Problematika vzťahov medzi PSB a prítomnosťou mastitídnych patogénov je stále aktuálnou pri diagnostike a prevencii ochorení vemena bahníc. Cieľom práce bolo prehĺbiť poznatky o príčine vysokého PSB v ovčom mlieku.

Materiál a metodika

Pokus sa realizoval na dvoch farmách oviec plemena Lacaune v podhorskej oblasti. Odber vzoriek sa uskutočnil na prielome mesiaca marec a jún v roku 2018 počas večerného dojenia. Celkovo bolo odobraných 202 vzoriek mlieka z jednotlivých polovic vemena bahníc (od 101 bahníc) na analýzu PSB a bakteriologického vyšetrenia na prítomnosť mastitídnych mikroorganizmov. V priebehu dňa boli ovce na paši a počas dojenia každá ovca dostala 0,1 kg jadrového krmiva. Dojilo sa dvakrát denne a postup pri dojení bol na farmách rovnaký. Pred ukončením dojenia sa robilo dodávanie ručne jemným tlakom na dojaciu súpravu v rozpätí 10-20 s bez dodatočného masírovania. Odber vzoriek mlieka prebiehal nasledovne. Po utretí cecku a predovšetkým hrotu cecku dezinfekčnou utierkou boli ručne oddojené 2-3 streky mlieka do nádoby s čiernym dnom. Následne boli oddojené vzorky mlieka do sterilných skúmaviek pre mikrobiologické vyšetrenie. Potom nasledoval odber vzorky mlieka do nádoby pre stanovenie PSB. Okamžite po odobraní vzorky mlieka na mikrobiologické vyšetrenie, bola vzorka mlieka uchovaná v prenosnej chladničke pri teplote 5 – 15 °C. Vzorky mlieka (inokulum 10 ul) boli kultivované na selektívnej diagnostickej pôde PM test (Lab Media Servis, ČR) pri teplote 37 °C po dobu 24 hodín. Izolované kmene patogénov boli následne overené typizáciou pomocou BBL Crystal® (Becton, Dickinson & Co., New Jersey, USA).

PSB sa stanovoval na prístroji Somacount 150. Na základe PSB boli bahnice rozdelené do piatich kategórií: do $0,2 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0,2-0,4 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0,4-0,6 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0,6-10^6 \text{ ml}^{-1}$; nad 10^6 ml^{-1} . Pomocou softvéru Excel (Microsoft, USA) sme vypočítali percentuálne zatriedenie bahníc do jednotlivých tried PSB. Percentuálne sme vyhodnotili aj zastúpenie jednotlivých patogénov. Hodnotenie vplyvu farmy (faktor farma) a prítomnosti patogénu na PSB sme uskutočnili pomocou softvéru SAS.

Výsledky a diskusia

Celkovo, bez ohľadu na farmu sa v prvej kategórii PSB nachádzalo až 61,88 % vzoriek mlieka, v druhej 5,45 %, tretej 3,46 %, štvrtej 2,97 % a v piatej 26,24 %. Výrazný bol vplyv farmy, kde na farme 1 bolo zaradených do prvej PSB triedy 81,00 % a do poslednej 9 % vzoriek mlieka pričom na farme 2 do prvej aj poslednej triedy bolo zaradených zhodne 43,14 %. Rozdiely pozorované medzi farmami pri tom istom plemene poukazujú na významný vplyv manažmentu chovu dojných bahníc. Na farme 2 43,14 % vzoriek zaradených do poslednej PSB kategórie poukazuje na veľké problémy v zdravotnom stave bahníc uvedeného stáda (Tabuľka 1). Na význam manažmentu poukazujeme aj v inej práci, kde pri Lacaune chovanom na Slovensku sme zistili podiel vzoriek mlieka z celého vemena v prvej kategórii PSB od 33 do 68 % (Tančín et al., 2017). Vzhľadom k tomu, že v súčasnosti neexistuje EU norma pre PSB v mlieku, je možné na základe dosiahnutých výsledkov konštatovať, že aj v chove bahníc v praktických podmienkach je možné dosahovať nízky PSB v mlieku poukazujúci na dobrý zdravotný stav vemien chovaných bahníc, a tým aj kvalitu surového ovčieho mlieka. Limitné hodnoty, ktoré uvádza Arias et al. (2012) ($0,3 \times 10^6 \text{ buniek.ml}^{-1}$) alebo Pengov (2001) ($0,25 \times 10^6 \text{ buniek.ml}^{-1}$) sa zdajú byť celkom reálne pri stanovovaní hranice pre posúdenie zdravia vemena. Poukazujú na to aj výsledky tejto práce, kde sa zistili vyššie hodnoty PSB v kontaminovaných vzorkách ($\log_x 5,78 \pm 0,10.\text{ml}^{-1}$) v porovnaní s nekontaminovanými ($\log_x 4,86 \pm 0,07 \text{ ml}^{-1}$, $P < 0,001$). Podobne aj Bagnicka et al. (2011) zistila vyšší PSB v kontaminovaných vzorkách kozieho mlieka v porovnaní s nekontaminovanými. Naopak, Hariharan et al. (2004) nezistil rozdiel v PSB medzi kontaminovanými a nekontaminovanými vzorkami ovčieho mlieka.

Tabuľka 1: Počet vzoriek v jednotlivých PSB triedach v závislosti od farmy a mesiaca odberu.

Podnik/mesiac	Trieda PSB (x.1000 buniek/ml)					Celkový počet
	do200	201-400	401-600	601-1000	nad1001	
Farma 1	81	4	5	1	9	100
Marec	43	2	2		3	50
Jún	38	2	3	1	6	50
Farma 2	44	7	2	5	44	102
Marec	22	4	1	2	25	54
Jún	22	3	1	3	19	48
Celkový počet	125	11	7	6	53	202

V kontaminovaných vzorkách, ktorých bolo 39,91 % (z toho dvomi 14,81 % a tromi patogénmi 2,47 %), sa frekvencia výskytu vzoriek mlieka v jednotlivých kategóriách

PSB výrazne líšila (29,63 %, 3,71 %, 2,45 %, 7,41 % a 56,79 %) v porovnaní s nekontaminovanými vzorkami (83,47 %, 6,61 %, 4,13 %, 0,00 % a 5,78 %). Pri kontaminovaných vzorkách zaradených do prvej PSB triedy by % vzoriek bolo nižšie, pretože z 24 kontaminovaných vzoriek bolo 12 vzoriek, v ktorých vyrástla len jedna kolónia, čo sa považuje za nekontaminovanú vzorku. Frekvencia zaradenia vzoriek mlieka do jednotlivých PSB tried poukazuje na opodstatnenosť sledovania PSB ako dôležitého ukazovateľa zdravia mliečnej žľazy.

V sledovaných vzorkách mlieka boli izolované dva dôležité infekčné mastitídne patogény, ktorých výskyt v danom súbore bahníc bol ale veľmi nízky: *Staphylococcus (S) aureus* (3,70 %) a *Streptococcus (Str.) agalactiae* (1,23 %). Najčastejšie sa vyskytovali koaguláza negatívne stafylokoky (CoNS), a to *S. chromogenes* (44,44 %), *S. epidermidis* (39,51 %), *S. xylosum* (22,22 %), ďalej nasledovali *Candida* sp. (2,47 %), *Klebsiella oxytosa* (2,47 %) a *Str. dysagalactiae* (1,23%).

Záver

Na dvoch vybraných farmách s tým istým plemenom sme zistili veľmi rozdielny zdravotný stav mliečnej žľazy bahníc, čo poukazuje na význam manažmentu chovu. Môžeme tiež znovu potvrdiť, že vysoký PSB v mlieku významne súvisí s prítomnosťou patogénu indikujúci tak zdravotný stav mliečnej žľazy. Štatisticky bol zistený vyšší PSB v kontaminovaných vzorkách mlieka. Konštatujeme, že pravidelné sledovanie počtu somatických buniek v podmienkach praxe môže byť významným chovateľským opatrením pri udržaní vysokej úrovne chovu dojných bahníc.

PodĎakovanie: Práca bola riešená v rámci projektu APVV-15-0072.

Literatúra

- Gonzalo, C., Gaudioso Lacasa, V.R. 1985. Evolution des types cellulaires du laits de brebis (race Churra) en fonction des dénombrements cellulaires totaux pendant la traite mécanique et manuelle. Ann. Zool., 34, 1985, 257-264.
- Bagnicka, E., Winnicka, A., Jozwik, A., Rzewuska, M., Strzałkowska, N., Kosciuczuk, E., Prusak, B., Kaba, J., Horbanczuk, J., Krzyzewski, J. 2011. Relationship between somatic cell count and bacterial pathogens in goat milk. Small Rumin. Res., 100, 2011, 72-77.
- Berthelot, X., Lagriffoul, G., Concordet, D., Barillet, F., Bergonier, D. 2006. Physiological and pathological thresholds of somatic cell counts in ewe milk. Small Rumin. Res., 62, 27-31.
- Fthenakis, G.C. 1994. Prevalence and aetiology of subclinical mastitis ewes of Southern Greece. Small Res. Rumin., 13, 1994, 293-300
- Hariharan, H., Donachie, W., Macaldowie, C., Keefe, G. 2004. Bacteriology and somatic cell counts in milk samples from ewes on a Scottish farm. Canadian J. Vet. Res., 68, 2004, 188-192
- Idriss, S.E., Tančin, V., Margetín, M., Tančinová, D., Sláma, P., Havlíček, Z. 2015. The frequency of distribution of somatic cell count in dairy ewe's milk. J. Microbiol., Biotech. and Food Sci., 4 (special issue 3), 2015, 148-151.
- Pengov, A. 2001. The role of coagulase-negative *Staphylococcus* spp. and associated somatic cell count in the ovine mammary gland. J. Dairy Sci., 84, 2001, 572-574.
- Tančin, V., Uhrinčat', M., Mačuhová, L., Baranovič, Š., Vršková, M. 2017. Somatic cell count in milk of individual lactating ewes under practical conditions in Slovakia: possible effect on milk yield and its composition. Potravinárstvo Slovak J. of Food Sci., 11, 2017, 386-390

Kontaktná adresa

Vladimír Tančin, prof. Ing., DrSc., NPPC Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 95141 Lužianky; SPU Nitra, FAPZ Katedra veterinárskych disciplín, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko, e-mail: tancin@vuzv.sk, vladimir.tancin@uniag.sk

Vzťah medzi elektrickou vodivosťou mlieka a počtom somatických buniek v ovčom mlieku

The relationship between the electrical conductivity of milk and the number of somatic cells in sheep's milk

Uhrinčat', M. ¹, Tančin, V. ^{1,2}, Tvarožková, K. ², Mačuhová, M. ¹, Vršková, M. ¹, Oravcová, M. ¹

¹NPPC-Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 95141 Lužianky, Slovenská republika

²Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

Súhrn

Cieľom práce bolo zhodnotiť vzťah medzi počtom somatických buniek (PSB, buniek/ml) a elektrickou vodivosťou (EV, mS/cm) mlieka oviec chovaných na Slovensku ako faktorov sledovania subklinických mastitíd na základe vyšetrenia zdravotného stavu vemena. Vzorky boli odoberané jednotlivo z oboch polovicí vemena od 345 oviec rôznych plemien z ôsmich fariem počas večerného dojenia. Na základe PSB boli vzorky rozdelené do tried s výskytom $< 0,2 \times 10^6$; $0,2 - 0,4 \times 10^6$; $0,4 - 0,6 \times 10^6$; $0,6 - 1 \times 10^6$ a $> 1 \times 10^6$ buniek/ml, resp. $< 0,7 \times 10^6$ a $> 0,7 \times 10^6$ buniek/ml. Podľa prítomnosti patogénov boli zatriedené ako infikované (223) a neinfikované (467). Zistili sme signifikantnú koreláciu medzi EV a PSB pri prvom triedení iba v prípadoch, keď boli analyzované všetky údaje spoločne ($r = 0,462$), pre $PSB \geq 600$ ($r = 0,391$) a pre $PSB < 200$ ($r = 0,122$). Pri druhom triedení sme zistili signifikantné korelácie v oboch prípadoch, pre $PSB < 700$ ($r = 0,192$) a pre $PSB \geq 700$ ($r = 0,368$). Dosiahnuté výsledky poukazujú na význam sledovania EV v individuálnych vzorkách mlieka dojných bahničiek vo vzťahu k PSB, ako aj výskytu patogénov, pre získanie dostatočného množstva údajov na vypracovanie matematických modelov pre zautomatizovanie procesu zatriedovania mlieka s vysokou úspešnosťou pozitívnych výsledkov.

Abstract

The aim of the work was to evaluate the relationship between the number of somatic cells (PSB, cells/ml) and electrical conductivity (EV, mS/cm) of milk from sheep kept in Slovakia, as a factor for the monitoring of subclinical mastitis based on examination of udder health. Samples were taken individually from both halves of the udder from 345 sheep of different breeds from eight farms during evening milking. Based on PSB, samples were divided into classes $< 0,2 \times 10^6$; $0,2 - 0,4 \times 10^6$; $0,4 - 0,6 \times 10^6$; $0,6 - 1 \times 10^6$ and $> 1 \times 10^6$ cells/ml and also $< 0,7 \times 10^6$ a $> 0,7 \times 10^6$ respectively. Based on the presence of pathogens, they were classified as infected (223) and uninfected (467). We found a significant correlation between EV and PSB at first classification only in cases where all data was analysed jointly ($r = 0,462$), $PSB \geq 600$ ($r = 0,391$) and $PSB < 200$ ($r = 0,122$). In the second classification, we found significant correlations in both cases, the $PSB < 700$ ($r = 0,192$) and the $PSB \geq 700$ ($r = 0,368$). The results achieved highlight the importance of monitoring EV in individual milk samples of dairy ewes in relation to PSB, as well as the occurrence of pathogens to obtain enough data to develop mathematical models to automate the process of classification of milk with a high success rate of positive results.

Kľúčové slová: počet somatických buniek, elektrická vodivosť, ovčie mlieko

Úvod

Zatriedovanie ovčieho mlieka na základe PSB nie je v Európe zatiaľ zavedené, no sledovanie zdravotného stavu vemena aj u oviec je pre chovateľa veľmi prospešné. Vysoký PSB znižuje tvorbu mlieka a množstvo laktózy a zvyšuje množstvo tuku a srvátkových bielkovín (Olechnowicz et al., 2009), výrazne však zhoršuje koagulačné vlastnosti (Abdelgawad et al., 2016). Elektrická vodivosť (EV) mlieka bola podrobne skúmaná u hovädzieho dobytku ako lacná metóda detekcie mastitídy, ktorá sa dá ľahko automatizovať z vysokou mierou citlivosti (Cavero et al., 2006). Mlieko má normálne EV medzi 4,0 - 6,0 mS/cm. Ak je meraná vodivosť vo významne extrémnej hodnote (6,5 - 13,00 mS/cm), vznikne indikácia mastitídy (Ferrero et al., 2014). Peris et al., (1989) navrhli prahovú hodnotu 5 mS/cm na diagnostiku žliaz s mastitídou, ktorá dosiahla citlivosť 60,2% a 91,4% špecifickosť, pričom 87,9% vzoriek bolo správne zaradených. Z rozširujúcim sa zavádzaním dojacej techniky pri dojení oviec a kôz sa začínajú častejšie sledovať vzťahy medzi PSB a EV aj u malých prežúvavcov (Caria et al., 2016, Romero et al., 2017). Cieľom práce bolo zhodnotiť vzťah medzi PSB a EV mlieka oviec chovaných na Slovensku ako faktorov sledovania subklinických mastitíd na základe vyšetrenia zdravotného stavu vemena.

Materiál a metodika

Vzorky mlieka jednotlivo z oboch polovicí vemena pochádzali od 345 oviec rôznych plemien z ôsmich fariem z večerného dojenia. Po dezinfekcii cecku a najmä hrotu boli ručne oddojené 2 streky mlieka mimo, cca 10 ml do prístroja Milk Checker N-4L (Oriental Instruments Co., Ltd., Japan) na zmeranie EV, 1 ml asepticky do sterilnej skúmavky pre mikrobiologické vyšetrenie a 50 ml do nádoby pre stanovenie PSB. Kultivácia prebehla metódou podľa Tančin et al., 2017, PSB bol stanovovaný prístrojom Somacount 150 (Bentley Instruments, Inc., Chaska, Minnesota). Na základe PSB boli vzorky rozdelené podľa Romero et al., (2017) do tried s výskytom $< 0,2 \times 10^6$; $0,2 - 0,4 \times 10^6$; $0,4 - 0,6 \times 10^6$; $0,6 - 1 \times 10^6$ a $> 1 \times 10^6$ buniek/ml, resp. podľa Caria et al., (2016) $< 0,7 \times 10^6$ a $> 0,7 \times 10^6$ pre vzájomné porovnanie. Hodnoty PSB a EV boli transformované pomocou dekadického logaritmu z dôvodu normalizácie dát, vzťahy boli analyzované pomocou zmiešaného lineárneho modelu. (Proc Mixed; SAS/STAT 9.1, 2002-2003), rozdiely boli testované Scheffeho testom. Pre výpočet vzťahu medzi PSB a EV bol použitý Spearmanov koeficient korelácie.

Výsledky a diskusia

Po analyzovaní výskytu patogénu v mlieku sme zistili, že u 188 zvierat nebol patogén vo vemene a u 157 zvierat sa patogén vyskytoval aspoň v jednej polovici vemena. Celkovo bolo infikovaných 223 polovičiek (32,3%), pričom 66 zvierat malo infikované obe a 91 zvierat len jednu polovičku. V 18 prípadoch bol zistený majoritný patogén (*Staphylococcus aureus* (8 prípadov) resp. *Streptococcus agalactiae*), v ostatných prípadoch (205) minoritný patogén. Vplyv prítomnosti patogénu na zmenu EV je možné vidieť v tab.1. Významné rozdiely $F_{(2;687)} = 33,08$; $P < 0,001$ v EV boli spôsobené prítomnosťou patogénov, majoritné patogény zvyšujú EV významnejšie ako minoritné. Priemerná vodivosť (priemer \pm smerodajná odchýlka (sd)) infikovaných polovičiek, bez vplyvu typu patogénu bola ($n=223$) $5,2363 \pm 1,2706$ mS/cm.

Tabuľka 1: Popisná štatistika vodivosti (mS/cm) v závislosti od výskytu infekcie

skupina	n	priemer	sd	medián	min.	max.
bez	467	4,6617 ^C	0,7455	4,5	3,1	10,3
major. patogény	18	5,9056 ^A	1,8700	5,3	2,9	9,6
minor. patogény	205	5,1776 ^B	1,1927	5,0	2,6	11,5

Podobne ako u EV, aj u PSBlog (tab.2) sme zaznamenali nárast hodnôt pod vplyvom prítomnosti patogénov. Majoritné patogény taktiež významne zvyšujú PSB ako v porovnaní s minoritnými, tak aj voči skupine bez prítomnosti patogénov. Priemer PSBlog bez vplyvu typu patogénu bol $5,7198 \pm 0,8596$.

Tabuľka 2: Popisná štatistika PSBlog v závislosti od výskytu infekcie

skupina	n	priemer	sd	medián	min.	max.
bez	467	4,8577 ^C	0,5994	4,7924	3,3010	7,0000
major. patogény	18	6,3988 ^A	0,9837	6,6447	4,3424	7,5887
minor. patogény	205	5,6602 ^B	0,8241	5,8235	3,7782	7,4532

Spearmanov korelačný koeficient medzi PSB a EV pri celom súbore ukázal na stredne silnú závislosť (tab.3), ktorá je vyššia, ako uvádzajú Caria et al., 2016 a Romero et al., 2017.

Tabuľka 3: Spearmanove korelačné koeficienty a popisná štatistika medzi EV (mS/cm) a triedami PSB ($\times 10^3$ buniek/ml) podľa Romero et al., 2017.

PSB	r	n	priemer	sd	medián	min.	max.
PSB < 200	0,122 ^{**}	475	4,5341 ^A	0,5822	4,5	2,6	7,9
200 ≤ PSB < 400	0,070 ^{NS}	39	4,8231 ^A	0,6234	4,8	3,5	6,7
400 ≤ PSB < 600	-0,115 ^{NS}	21	4,7810 ^A	0,6022	4,8	3,8	6,2
PSB ≥ 600	0,391 ^{***}	155	5,8226 ^B	1,3732	5,5	3,5	11,5
všetky hodnoty	0,462 ^{***}	690					

** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Štatisticky významné rozdiely v EV v jednotlivých PSB triedach $F_{(3;686)} = 93,83$; $P < 0,001$ boli spôsobené zvýšenou vodivosťou v triede PSB ≥ 600 v porovnaní s hodnotami EV v ostatných triedach. Pri triedení vodivosti podľa Caria et al., 2016 (tab. 4) sme zistili významné rozdiely v hodnotách vodivosti medzi triedami $F_{(1;688)} = 282,80$; $P < 0,001$.

Tabuľka 4: Spearmanove korelačné koeficienty a popisná štatistika medzi EV (mS/cm) a triedami PSB ($\times 10^3$ buniek/ml) podľa Caria et al., 2016.

PSB	r	n	priemer	sd	medián	min.	max.
PSB < 700	0,192 ^{***}	544	4,5724 ^A	0,5923	4,5	2,6	7,9
PSB ≥ 700	0,368 ^{***}	146	5,8719 ^B	1,3954	5,5	3,5	11,5

*** $p < 0,001$

Záver

Záverom je možné konštatovať, že dosiahnuté výsledky poukazujú na význam sledovania EV v individuálnych vzorkách mlieka dojnych bahnic vo vzťahu k PSB, ako aj výskytu patogénov, pre získanie dostatočného množstva údajov na vypracovanie matematických modelov pre zautomatizovanie procesu zatried'ovania mlieka s vysokou úspešnosťou pozitívnych výsledkov.

Literatúra

- Abdelgawad, A. R., Rovai, M., Caja, G., Leitner, G., Castillo, M. Evaluating coagulation properties of milk from dairy sheep with subclinical intramammary infection using near infrared light scatter. A preliminary study. *Journal of Food Engineering*, 2016, vol. 168, s. 180-190.
- Caria, M., Chessa, G., Murgia, L., Todde, G., Pazzona, A. Development and test of a portable device to monitor the health status of Sarda breed sheep by the measurement of the milk electrical conductivity. *Italian Journal of Animal Science*, 2016, vol. 15, č. 2, s. 275-282.
- Cavero, D., Tölle, K. H., Buxadé, C., & Krieter, J. Mastitis detection in dairy cows by application of fuzzy logic. *Livestock Science*, 2006, vol. 105, č.1-3, s. 207-213.
- Ferrero, F. J., Valledor, M., Campo, J. C. Screening method for early detection of mastitis in cows. *Measurement*, 2014, vol. 47, s.855-860.
- Olechnowicz, J., Jaśkowski, J. M., Antosik, P., Bukowska, D. Milk yield and composition in line 05 dairy ewes as related to somatic cell counts. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 2009, vol. 18, č. 3, s. 420-428.
- Peris, C., Molina, P., Fernandez, N., Rodriguez, M., Torres, A. Variation in Somatic Cell Count, California Mastitis Test, and Electrical Conductivity Among Various Fractions of Ewe's Milk1. *Journal of dairy science*, 1991, vol. 74, č. 5, s. 1553-1560.
- Romero, G., Roca, A., Alejandro, M., Muelas, R., & Díaz, J. R. Relationship of mammary gland health status and other noninfectious factors with electrical conductivity of milk in Manchega ewes. *Journal of dairy science*, 2017, vol. 100, č.2, s. 1555-1567.
- Tančin, V., Holko, I., Vršková, M., Uhrinčat', M., Mačuhová, L. Vzťah medzi prítomnosťou mastitídnych patogénov a počtom somatických buniek v mlieku bahníc. *Hygiena a technológia potravín - XLVII. Lenfeldovy a Höklovy dny Brno*, Sborník přednášek a posterů, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2017, s. 230-233.

Pod'akovanie: Práca bola riešená v rámci projektu APVV-15-0072.

Kontaktná adresa

PaedDr. Michal Uhrinčat', PhD.
Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum
Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra
Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky,
e-mail: uhrincat@vuzv.sk

Detekcia prídavku kravského mlieka v ovčom mlieku pomocou rýchlych screeningových testov

Detection of addition cows' milk in sheep's milk by rapid screening tests

Vataščinová, T., Pipová, M., Maľová, J., Dudriková, E., Baranová, M., Semjon, B.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Ovčie mlieko je veľmi cennou a nenahraditeľnou potravinou. V porovnaní s kravským a kozím mliekom má vyššie výživové hodnoty, od ktorých sa odráža aj cena mlieka. V súčasnosti sa môžeme stretnúť aj s nežiaducim miešaním viacerých druhov mliek, najmä pridávanie kravského mlieka do ovčieho alebo kozieho. Nežiaduce miešanie rôznych druhov mliek, však môže ovplyvniť technológiu výroby mliečnych výrobkov a zdravie konzumenta. Preto je kontrola používanej suroviny na výrobu mliečnych výrobkov pre výrobcov a konzumentov veľmi významná a strategická. Za účelom detekcie prídavku kravského mlieka v ovčom mlieku sa testovalo 126 vzoriek. V štyroch vzorkách bola potvrdená prítomnosť kravského mlieka.

Abstract

Ewe's milk is a very valuable and irreplaceable food. Compared to cow's milk and goat's milk, it has higher nutritional values, which also reflects the price of milk. At present, we can also encounter unwanted mixing of several types of milk, especially the addition of cow's milk to the sheep's or goat's milk. Undesirable, mixing of dairy products may have affect to the technology of dairy products and consumer health. Therefore, the control of the raw material used to manufacture dairy products is very important and strategic for producers and consumers. In this study, 126 different samples of milk, from various producers were tested. Four samples were positive for addition cow milk.

Kľúčové slova: *ovčie mlieko, kravské mlieko, rýchle screeningové testy*

Úvod

Nariadenie EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (EÚ) č.1169/2011 o poskytovaní informácií o potravinách spotrebiteľom, okrem iného, pojednáva o práve spotrebiteľa vo vzťahu k informáciám o potravinách a označovaní potravín. Slovom „ovčie“ alebo „z ovčieho“ možno označovať mlieko alebo výrobok z neho, ak sa na ich výrobu použila ako surovina len ovčie mlieko (Vestník MP a MZ SR.). Ovčie mlieko má v porovnaní s kravským a kozím mliekom odlišné zastúpenie jednotlivých zložiek mlieka, ktoré sa môžu v priebehu laktácie meniť. Rozdiely nie sú len v percentuálnom zastúpení jednotlivých zložiek, ale jednotlivé zložky tiež vykazujú určité odlišnosti (zastúpenie mastných kyselín v tuku, aminokyselín v bielkovinách a pod.). Vzhľadom na vyšší obsah všetkých zložiek sa dá konštatovať, že ovčie mlieko je hodnotnejšie a výživnejšie ako kravské a kozie (Halkens, 2003).

Pri miešaní drahšieho mlieka (ovčieho) s kozím alebo kravským, dochádza k redukcii výrobných nákladov, a tak zníženiu produkcie kvalitných výrobkov (Zeľňáková, 2003). Treba chrániť konzumentov, ktorí si neprajú konzumovať mlieko iných druhov. Určité percento obyvateľstva sa vyznačuje alergiou na zložky daných druhov mliek (Zeľňáková a Golian, 2008). Vysledovateľnosť potravín je veľmi dôležitá, pokiaľ ide o kvalitu potravín a typickosť potravín. Spotrebiteľ nedokáže identifikovať pôvod

mlieka v mliečnom výrobku. Ten sa môže predávať pod rôznymi názvami, za rozdielne ceny. Vzniká tak problém falšovania potravín (Kemal Seckin, 2017). Vzájomné falšovanie ovčieho, kozieho a kravského mlieka sa môže stať vážnym problémom vo výrobe, pretože spôsobuje technologické problémy pri spracovaní, jeho následkom sú hygienické a výživové nedostatky, ako i ekonomické straty (Raivio, 2007).

Materiál a metodika

Odber vzoriek prebiehal v období najvyššej produkcie ovčieho mlieka od apríla do júla 2018. Vzorky boli odoberané raz týždenne, podľa pokynov STN EN ISO 6887-5., súčasne so zvoznou linkou mlieka priamo na farme dodávateľa. Screening bol vykonaný u siedmich prvovýrobcov a dodávateľov ovčieho mlieka. Analýza bola vykonaná Cowsenzorom - rýchly screeningový test umožňujúci rýchlu kontrolu prítomnosti kravského mlieka vo vzorke mlieka. Test umožňuje kontrolu prítomnosti od 1% prídavku mlieka. Detekcia testu bola overená kontrolnou vzorkou: Do 99 ml ovčieho mlieka sme pridali 1 ml kravského mlieka.

Postup: Do mikrojamky bolo pridaných 200 μ l mlieka a premiešaných 5-10 krát, tak, aby bola vzorka homogénna. Testovací prúžok bol vložený do jamky a inkubovaný 10 minút pri 40 °C. Po inkubácii sa výsledok vizuálne odčítal.

Výsledky a diskusia

Od prvovýrobcov a dovozcov ovčieho mlieka bolo spolu odobratých 126 vzoriek. V apríli boli dve vzorky, v druhom a treťom týždni, pozitívne na prídavok kravského mlieka. Jedna pozitívna vzorka bola detegovaná v máji v prvom týždni a jedna vzorka v druhom týždni v júni. Všetky pozitívne vzorky boli od rôznych prvovýrobcov a dodávateľov ovčieho mlieka. Vzorky sa podrobili opätovnej kontrole, ktorej výsledok bol pozitívny v množstve detekčného limitu 1%. Dodávatelia boli so skutočnosťami oboznámení, sankciovaní a došlo u nich k náprave.

Medzidruhovú falšovanie mlieka vzniká pridaním kravského mlieka do drahšieho ovčieho mlieka. V dôsledku toho, zloženie syrov a syrových výrobkov nezodpovedá údajom uvedených na obale (Paulov, 2011).

Na dôkaz prímеси kravského mlieka v mliečnych výrobkoch je k dispozícii referenčná metóda založená na izoelektrickej fokusácii γ -kazeínov. Na tento účel je k dispozícii tiež niekoľko typov komerčných súprav na princípe ELISA. Ako vysoko selektívna a citlivejšia alternatíva sa vypracovali viaceré metódy na princípe polymerázovej reťazovej reakcie (PCR) (Piknová, 2002).

Testy pre detekciu protilátok IgA, slúžia ako jednoduchá a rýchla metóda skríningu (Raivio, 2007).

Zeleňáková a Golian (2008) uvádzajú, že je nevyhnutné vedecky overovať možnosti detekcie falšovania mlieka metódami, ktoré sú rýchle, spoľahlivé a cenovo prístupné.

Záver

Tieto screeningové testy umožňujú rýchlu diagnostiku mlieka, čo má vplyv na rýchlu reakciu prípadných pozitívnych výsledkov a riešenie tejto nožnej situácie. Na základe výsledkov predchádzajúcej (Detekcia možného falšovania ovčieho mlieka rýchlymi screeningovými testami) a súčasnej štúdie vyslovujeme odporúčanie spracovateľom ovčieho mlieka, používať rýchle testy na detekciu boviných protilátok.

Literatúra

- Halken, S. 2003. Early sensitisation and development of allergic airway disease – risk factors and predictors. In *Pediatr. Respir. Rev.*, 2003, no. 4, p. 128-134.
- Kemal Seckin, A. et al. 2017. Real-time PCR is a potential tool to determine the origin of milk used in cheese production. In *LWT.*, vol. 77, 2017, p. 332-336.
- Paulov, 2011. Uplatnenie progresívnych analytických metód pri detekcii falšovania syrov. Bakalárska práca.
- Piknová, Ľ., Krahulcová, J., Kuchta, T. Dôkaz kravskej mliečnej zložky v ovčích a kozích syroch polymerázovou reťazovou reakciou. In: *Bulletin potravinárskeho výskumu (Bulletin of Food Research)* Roč. 41, 2002, č. 3, s. 163–167.
- Raivio, T. 2007. Performance of a new rapid whole blood coeliac test in adult patients with low prevalence of endomysial antibodies. *Digestive and Liver Disease*, 2007, vol. 39, No. 12, p.1057-1063.
- Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky zo 14. Augusta 2006 č. 2143/2006-100.
- Zeleňáková, L. 2003. Aplikácia ELISA metódy na detekciu falšovania ovčieho mlieka a syrov. In *Mliekarstvo*, roč. 33, 2003, č.4, s. 38-39.
- Zeleňáková, L. a Golian, J. 2008. Aplikácia ELISA testov na detekciu falšovania mlieka a syrov, Nitra: SPU, 2008-98 s. ISBN 978-80-5552-0075-0.

Kontaktná adresa

MVDr. Tatiana Vataščinová,
UVLF v Košiciach
Ústav hygieny a technológie mlieka
Komenského 73, 04181 Košice
e-mail: andraskovata@gmail.com

Hodnocení vývoje trhu s biopotravinami v České republice

An Assessment of the Development of Organic Food Market in the Czech Republic

Vošmerová, P., Babulová, A.

Ústav veřejného a soudního veterinárního lékařství, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, ČR

Souhrn

Tato práce se zabývala hodnocením vývoje trhu s biopotravinami v České republice. Práce hodnotila jeden z cílů, který byl vytyčen Ministerstvem zemědělství ve strategických dokumentech s názvem „Akční plán České republiky pro rozvoj ekologického zemědělství“, kdy první byl do roku 2010, druhý od roku 2011 do roku 2015 a třetí od roku 2016 do roku 2020. Dalším cílem bylo pomocí statistické metody vyhodnotit rozdíly ve vývoji ekologického zemědělství a trhu s biopotravinami mezi prvními dvěma „Akčními plány“.

V prvním strategickém dokumentu pro rozvoj ekologického zemědělství byl jedním z cílů rozšiřovat trh s biopotravinami a ten se podařilo naplnit, druhý strategický dokument stanovil dosáhnout tříprocentní podíl biopotravin na trhu s potravinami do roku 2015, byl to velmi ambiciózní cíl, a i když spotřeba biopotravin stoupala, tento cíl naplněn nebyl. Ve třetím strategickém dokumentu byl tento cíl opětovně zařazen a zatím to nevypadá, že by byl naplněn. Dále bylo na základě shromážděných údajů zjištěno, že vývoj nárůstu spotřeby biopotravin se v jednotlivých obdobích statisticky významně lišil.

Abstract

This work was dealing with the assessment of the production of organic food in the Czech Republic. The work evaluated one of the objectives by the Ministry of Agriculture in the strategic document entitled “Czech Action Plan for Development of Organic Farming“, the first target by the year 2010, the second from 2011 to 2015 and the third from 2016 to 2020. Another goal was to evaluate the differences in the development of organic farming and the organic food market between this first two “Action Plans“.

In the first strategic document for the development of organic farming one of the aims was to expand the organic food market, which was accomplished. The second strategic document set a goal to achieve a three percent share of organic food on the market by 2015; this aim was very ambitious and although the consumption of organic food increased, this aim was not fulfilled. In the third strategic document this goal was re-classified and so far it does not seem to have been fulfilled yet. Furthermore, on the basis of the data gathered, it was found that the development of the growth of the consumption of organic food statistically differed significantly between the periods.

Klíčová slova: *ekologické zemědělství, Akční plán, cíl, spotřeba*

Úvod

Zdraví životní styl a zdravé stravování je trendem dnešní doby. Lidé se v posledních letech čím dál tím více zajímají o kvalitu a původ potravin. De facto každý den

se v médiích objevuje zmínka o uvádění nebezpečných potravin na trh. Jedním z důvodů může být i to, že mnoho výrobců stále častěji upřednostňuje kvantitu na úkor kvality. Na druhé straně ekologičtí zemědělci a výrobci biopotravin si zakládají právě na kvalitě výsledného produktu a ne na jeho množství.

Materiál a metodika

Pro účely této práce byly použity údaje ze statistického šetření Ústavu zemědělské ekonomiky a informací. Konkrétně byla použita data ze zpráv o trhu s biopotravinami v České Republice z let 2004 až 2015. Dále údaje z Ročenek Ministerstva zemědělství z let 2006 až 2015 a data uvedená ve strategickém dokumentu s názvem Akční plán ČR pro rozvoj ekologického zemědělství v letech 2011 – 2015“, který vydalo Ministerstvo zemědělství, jakožto druhý v pořadí.

Veškeré výpočty (meziroční změny, průměry, mediány a směrodatné odchylky) byly provedeny softwarem Windows Microsoft Office Excel 2007 za použití modulu pro statistické výpočty. Shromážděná data byla zpracována a vyhodnocena s využitím statistického programu UNISTAT 5.6 za použití Mann-Whitneova pořadového testu. Tento neparametrický test byl použit k porovnání dvou různých výběrových souborů dat, tedy souboru dat z let 2004 – 2010 a souboru dat z let 2011 – 2015. Hodnota $P \leq 0,01$ byla považována za vysoce statisticky významnou.

Výsledky a diskuze

Tabulka č. 1: Vývoj podílu biopotravin na celkové spotřebě potravin a nápojů v ČR

Rok	Podíl biopotravin v procentech	Rozdíl oproti přechozímu roku	Meziroční změna v procentech
2004	0,12	0	0
2005	0,18	0,06	50,0
2006	0,35	0,17	94,4
2007	0,55	0,20	57,1
2008	0,75	0,20	36,4
2009	0,65	-0,10	-13,3
2010	0,63	-0,02	-3,1
2011	0,65	0,02	3,2
2012	0,66	0,01	1,5
2013	0,71	0,05	7,6
2014	0,72	0,01	1,4
2015	0,81	0,09	12,5
Průměr	0,57	0,06	20,6
Medián	0,65	0,04	5,4
SD	0,22	0,09	30,7

Vysvětlivky:

SD = směrodatná odchylka

V tabulce č. 1 je patrný vývoj podílu biopotravin na celkové spotřebě potravin v České republice od roku 2004 až do roku 2015. Z uvedené tabulky lze vyčíst i rozdíl podílu biopotravin oproti předcházejícímu roku a také meziroční změnu vývoje podílu biopotravin v procentech. Z uvedené tabulky lze pozorovat, že růst podílu biopotravin v jednotlivých letech nebyl vyrovnaný. K většímu nárůstu došlo pouze mezi roky 2006 až 2008, kdy v obou případech došlo k růstu o 0,20 procent. K mírnému poklesu spotřeby o 0,10 procent došlo mezi roky 2008 a 2009. Dále byl zaznamenán pokles spotřeby o 0,02 procent mezi roky 2009 a 2010. Od roku 2010 se podíl biopotravin na celkové spotřebě biopotravin a nápojů rovnoměrně zvyšoval, v průměru o 0,04 procent. Z tabulky vyplývá, že se podíl biopotravin na celkové spotřebě potravin v průběhu jedenácti let zvýšil o 0,69 procent.

V prvním „Akčním plánu ČR pro rozvoj ekologického zemědělství do roku 2010“ bylo jedním z cílů rozšiřovat trh s biopotravinami. Z tabulky č. 1 vidíme, že tento cíl byl naplněn, došlo v tomto období k nárůstu o 0,51 procent. Ve druhém „Akčním plánu ČR pro rozvoj ekologického zemědělství v letech 2011 - 2015“ bylo jedním z hlavních cílů dosažení tříprocentního podílu biopotravin na celkovém množství spotřebovaných potravin. Tohoto cíle však nebylo dosaženo, protože v roce 2015 představoval podíl spotřebovaných biopotravin pouze 0,81 procent. Z tabulky č. 1 vyplývá, že v tomto období došlo k nárůstu biopotravin pouze o 0,16 procent. Tento záměr byl tedy opět stanoven v následujícím strategickém dokumentu pro roky 2016 až 2020. Nicméně podle průměrného ročního nárůstu s největší pravděpodobností nebude tohoto cíle dosaženo ani v roce 2020. Spotřebitelé totiž stále uvádějí jako největší překážku vysokou cenu biopotravin v rámci maloobchodních řetězců. Potíž je však v tom, že maloobchodní řetězce nabízejí většinu dovezených finálních biopotravin do ČR (MZe, 2016).

Spotřeba biopotravin do roku 2008 stoupala, ale mezi roky 2009 až 2010 došlo k poklesu. Tento pokles nastal pravděpodobně v důsledku hospodářské krize (MZe, 2016). Od roku 2010 se však spotřeba biopotravin začala pomalu zvyšovat. Jedním z důvodů mohlo být i to, že se v českých městech začaly pravidelně konat farmářské trhy. V roce 2011 byl zaznamenán významný nárůst těchto trhů, kdy se z velkých měst rozšířily i do měst střední velikosti. I když na těchto trzích tvořily biopotraviny jen zlomek sortimentu, stále to byl významný krok kupředu. V roce 2011 se však pravidelně konal pouze jeden farmářský trh, kde byly nabízeny výhradně biopotraviny (Hrabalová a kol., 2012).

Dalším důvodem, díky kterému se prodej biopotravin ustálil nebo mírně zvyšoval, byl tzv. bedýnkový systém. Tento systém funguje na jednoduchém principu, kdy zprostředkovatel nakoupí od zemědělce jeho produkty a poté je prodává spotřebitelům. Bedýnkový systém se musel v roce 2011 vypořádat s nemalým úbytkem zákazníků, kteří začali nakupovat produkty na farmářských trzích. V dnešní době by si však zprostředkovatelé bedýnek bez ekologických zemědělců již neporadili. V neposlední řadě vznikala i řada projektů, které měly za úkol zvýšit prodej biopotravin do školních jídelen. Zájem o biopotraviny ve veřejných stravovacích zařízeních se však zvýšil pouze nepatrně. Lze tedy konstatovat, že prodej biopotravin do zařízení hromadného stravování, měl na zvýšení podílu spotřeby biopotravin pouze minimální vliv (Hrabalová a kol., 2012).

Tabulka č. 2: Statistické vyhodnocení dat vývoje podílu biopotravin na celkové spotřebě potravin a nápojů v ČR

1. Akční plán		2. Akční plán	
Rok	Podíl biopotravin v procentech	Rok	Podíl biopotravin v procentech
2004	0,12	2011	0,65
2005	0,18	2012	0,66
2006	0,35	2013	0,71
2007	0,55	2014	0,72
2008	0,75	2015	0,81
2009	0,65		
2010	0,63		
Průměr	0,46	Průměr	0,71
Medián	0,55	Medián	0,71
SD	0,25	SD	0,06
M-W test	P=0,0000 **		

Vysvětlivky:

SD = směrodatná odchylka

** = statisticky vysoce významný rozdíl ($P \leq 0,01$)

M-W test = Mann-Whitneyův pořadový test

Po statistickém vyhodnocení shromážděných dat, jak je vidět v tabulce č. 2, byl prokázán vysoce významný rozdíl mezi obdobími, kdy platil v pořadí první „Akční plán“ a obdobími, kdy byl platný v pořadí druhý „Akční plán“.

Závěr

Cíl „Akčního plánu ČR pro rozvoj ekologického zemědělství v letech 2011 - 2015“ v oblasti podílu biopotravin lze označit za příliš optimistický. Ze získaných údajů vyplývá, že ačkoliv je povědomí o ekologickém zemědělství a trh s biopotravinami na vzestupu, stanovené cíle nebyly ani zdaleka naplněny. Příčin neúplně optimálního rozvoje bylo několik. Mezi ty hlavní patřila především nedostatečná propagace, nedostatečná informovanost spotřebitelů a vysoká cena biopotravin. Na základě statistického vyhodnocení shromážděných údajů z obou období bylo zjištěno, že vývoj nárůstu podílu biopotravin na trhu se ve sledovaných obdobích statisticky významně lišil.

Literatura

Dostupná u autorů.

Kontaktní adresa

MVDr. Petra Vošmerová, Ph.D., VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav veřejného a soudního veterinárního lékařství, Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno, e-mail: vosmerovap@vfu.cz

Mikrobiologická kvalita surového ovčieho mlieka bazénových vzoriek *Microbiological quality of raw sheep's milk in bulk milk tank*

Vršková, M.¹, Tančin, V.^{1,2}, Mačuhová, L.¹, Uhrinčať, M.¹, Tvarožková, K.²

¹NPPC - Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, vrskova@vuzv.sk

²SPU FAPZ, Katedra veterinárskych disciplín, Nitra

Súhrn

Pri kontrole kvality surového ovčieho mlieka (SOM) podľa platných právnych predpisov je hlavným mikrobiologickým kritériom celkový počet mikroorganizmov (CPM) podľa nariadenia ES č. 1662/2006. Cieľom našej práce bolo určiť výskyt technologicky významných druhov mikroorganizmov v SOM v Slovenskej republike v roku 2018. Vzorky SOM boli bazénové vzorky mlieka na jar a v lete z 24 sledovaných fariem. CPM (norma STN EN ISO 4833), počty psychrotrofných mikroorganizmov (PPM, STN ISO 6730) a počet termorezistentných baktérií (PTB) boli kultivované na GTK agare a počet koliformných baktérií (PKB, STN ISO 4832) bol kultivovaný na VČŽL agare. Prítomnosť anaeróbných baktérií tvoriacich spóry (SPAN) sme skúmali zalievaním tekutým parafínom. PSB sme stanovili na prístroji Somacount 150 (Bentley Instruments, Chaska, MN, USA). Priemerná hodnota CPM na jar sa pohybovala od 34 do 501 x10³ KTJ.ml⁻¹ a v lete od 31 do 640 x10³ KTJ.ml⁻¹. Legislatívny limit 1 500 000 KTJ.ml⁻¹ pre vzorky SOM neprekročila žiadna farma. Na jar sme zaznamenali SPAN na 1 farme, v lete na troch. Priemerná hodnota termorezistentných MO sa pohybovala od 2 do 261 KTJ.ml⁻¹ na jar a od 4 do 32 KTJ.ml⁻¹ v lete. PKB, ako indikátor hygieny vemena, sme zistili priemernú hodnotu od 0 do 190 x10² KTJ.ml⁻¹.

Abstract

At the control of raw ewe's milk (REM) quality under current legislation is a major microbiological criterion the total bacterial count (TBC, by EC Regulation no. 1662/2006). The aim of our work was to determine the incidence of technologically important species of microorganisms in REM in Slovak Republic at year 2018.

Samples of raw ewe's milk from bulk tank milk were taken in the spring and summer in 24 farms. TBC (norm STN EN ISO 4833), psychrotrophic microorganisms count (PMC, STN ISO 6730) and thermoresistant bacteria count (TC) were cultivated on tryptic glucose yeast agar and the coliform bacteria count (CBC, STN ISO 4832) were cultivated on violet red bile agar. The presence of spore-forming anaerobic bacteria (SFAB) were examined pouring liquid paraffin. The Somacount 150 (Bentley Instruments, Chaska, MN, USA) used SCC.

Average value of TBC for the spring ranged from 34 to 501x10³ CFU.ml⁻¹ and for the summer from 31 to 640 x10³ CFU.ml⁻¹. Legislative limit of 1 500 000 CFU.ml⁻¹ for sample of REM exceeded any farm. In the spring, we detected by SFAB one farm and in the summer 3 farms. Average value of TC was ranged from 2 to 261 CFU.ml⁻¹ in the spring and from 4 to 32 CFU.ml⁻¹ in the summer. CBC as an indicator of udder hygiene we evaluated average value from zero to 190x10² CFU.ml⁻¹.

Kľúčové slová: surové ovčie mlieko, celkový počet mikroorganizmov, sporotvorné anaeróbné mikroorganizmy, koliformné mikroorganizmy, termorezistentné mikroorganizmy, psychrotrofné mikroorganizmy

Úvod

Na Slovensku je chov oviec zameraný na produkciu mlieka. Zvyšovanie mliekovej úžitkovosti sa zabezpečilo dovozom špecializovaných mliekových plemien napr. lacaune alebo východofrízka ovca a ich následným krížením s našimi plemenami oviec (cigája, zošľachtená valaška, Tančin et al., 2013).

Kvalita mlieka zahŕňa v širšom poňatí chemické zloženie, fyzikálne a technologické vlastnosti, biochemické, mikrobiologické a zdravotné ukazovatele (STN 57 0510). V užšom slova zmysle môžeme hovoriť len o hygienických (mikrobiologických) aspektoch. Každá z týchto charakteristík obsahuje celý rad akostných znakov, ktoré rozhodujú o výslednej kvalite mlieka, ale aj o kvalite mliečnych produktov. Z legislatívnych limitov je stanovený celkový počet mikroorganizmov v dodávanom surovom ovčom mlieku. Tento limit stanovuje Nariadenie (ES) č. 853/2004 ktorým sa stanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu, podľa ktorého celkový počet mikroorganizmov v 1 ml mlieka (pri 30 °C) nesmie presiahnuť hodnotu 1 500 000 KTJ a pri surovom ovčom mlieku pre ďalšie spracovanie, ktoré nepodlieha tepelnému ošetreniu, sa tento počet znižuje na 500 000 KTJ. Celkový počet mikroorganizmov (CPM) v dodávanom surovom ovčom mlieku poukazuje na celkovú úroveň hygieny chovu a technológiu získavania (strojové a ručné dojenie) a uchovávanía mlieka. CPM odráža hygienu chovateľských podmienok pri výrobe mlieka a je v rukách samotného chovateľa. Bakteriálna kontaminácia pochádza z rôznych zdrojov, ako sú flóra a patogény prítomné v podstielke, dojacích zariadeniach, počas skladovania a prepravy, kŕmenia, preplachovej vody, z vemená alebo mastitídneho mlieka. Niektoré z týchto baktérií sú odolné voči pasterizácii, alebo sú schopné rásť pri teplote chladenia alebo indikovať fekálnu kontamináciu, mastitídu, prípadne môžu fermentovať kyselinu mliečnu na maslovú, CO₂ a H₂, ktoré spôsobujú neskoré nadúvanie syrov (Gonzalo, 2017).

Cieľom práce bolo zistiť výskyt technologicky významných druhov mikroorganizmov v surovom ovčom mlieku na Slovensku počas dojenej periódy v roku 2018.

Materiál a metodika

Na sledovaných 24 farmách bahníc sme odoberali bazénové vzorky z večerného prípadne ranného dojenia v mesiacoch marec, apríl a máj (jar) a v mesiacoch jún, júl a august (leto) počas roka 2018. Analyzovali sme CPM (povinný ukazovateľ podľa Nariadenia ES č. 1662/2006) podľa normy STN ISO 4833 (1997, 2004). Stanovili sme technologicky významné druhy mikroorganizmov psychrotrofné MO podľa STN ISO 6730 (2000) a koliformné MO podľa normy STN ISO 4832 (2000). Výskyt termorezistentných MO sme zisťovali na živnej pôde GTK a prítomnosť sporotvorných anaeróbných MO zalievaním tekutým parafínom. PSB sme stanovili na prístroji Somacount 150 (Bentley Instruments, Chaska, MN, USA).

Výsledky a diskusia

Zistili sme, že ukazovateľ CPM v surovom ovčom mlieku spĺňal požiadavky nariadenia EÚ č. 1662/2006 s priemernou hodnotou 132 x10³ KTJ.ml⁻¹ na jar (min. 34 x10³ KTJ.ml⁻¹ a max. 501 x10³ KTJ.ml⁻¹) a 310 x10³ KTJ.ml⁻¹ v lete (min. 31 x10³ KTJ.ml⁻¹ a max. 640 x10³ KTJ.ml⁻¹, tab. 1). Gonzalo (2017) zistil podobné hodnoty CPM ako my na jar, Martínez et al. (2018) výrazne nižšie hodnoty (49 x10³ KTJ.ml⁻¹). Vršková et al. (2017) uviedli v lete 2016 rozpätie CPM 187 až 964x10³ KTJ.ml⁻¹. Skapetas et al. (2017) zistili vyššiu hodnotu CPM

494 x10³ KTJ.ml⁻¹ pri PSB 313 x10³ buniek v 1 ml. Kondyli et al. (2012) zistili naopak nižšie hodnoty CPM v lete 170 x10³ buniek v 1 ml ako na jar 600 x10³ buniek v 1 ml. Na mikrobiologickú kvalitu ovčieho mlieka podľa Gamčíkovej a Hanzelyovej (2009) v prvovýrobe vplývajú najmä neodhalené mastitídy bahníc. Počet somatických buniek nie je doteraz povinne sledovaný ukazovateľ ako je to u dojníc. Na jar malo 7 fariem z 15 hodnotu somatických buniek nad 1000 x10³ buniek v 1 ml. Zvyšné farmy sa pohybovali v rozpätí od 131 do 825 x10³ buniek v 1 ml. V lete bol PSB u 5 fariem nad 1000 x10³ buniek v 1 ml. Zvyšné štyri farmy sa pohybovali v rozpätí od 60 do 965 x10³ buniek v 1 ml. Carloni et al. (2016) zistili rozpätie medzi sledovanými farmami u CPM od 2 do 865 x10³ KTJ.ml⁻¹ a PSB od 151 do 3384 x10³ buniek v 1 ml. Kološta a Drončovský (2006) zistili aritmetický priemer CPM až 21 921 x10³ buniek v 1 ml surového ovčieho mlieka. Ducková a Čanigová (2004) stanovili CPM od 57 x10³ do 3 400 x10³ KTJ.ml⁻¹ pri priemernej hodnote 580 x10³ KTJ.ml⁻¹.

Surové mlieko sa skladuje v prvovýrobe do 8 °C a môže tak prísť k rozmnoženiu psychrotrofnej mikroflóry. Dané mikroorganizmy produkujú termostabilné lipolytické a proteolytické enzýmy, ktoré prechádzajú pasterizáciou v aktívnej forme a môžu spôsobiť senzorické chyby mlieka a technologické škody tým, že znemožňujú jeho ďalšie spracovanie.

Enormný výskyt psychrotrofných baktérií sme zistili na jednej farme zo severného Slovenska počas jari aj leta, v lete nám stúpol počet na 3 farmy. Tieto sme preto nezaradili do štatistického zhodnotenia. Vysvetľujeme si to kontamináciou mlieka v nedostatočne dezinfikovaných a chladených zberných nádobách v súlade s konštatovaním Duckovej a Čanigovej (2004). Zvyšné farmy majú dojáreň a vedľa mliečnicu so zberným a chladiacim tankom. Ostatné farmy mali priemernú hodnotu počtu daných MO 12x10³ KTJ.ml⁻¹ na jar a 28x10³ KTJ.ml⁻¹ v lete. Ducková a Čanigová (2004) zistili až 240x10³ KTJ.ml⁻¹.

Počet termorezistentných MO bol s priemernou hodnotou 57 KTJ.ml⁻¹ na jar a 15 KTJ.ml⁻¹ v lete. Gonzalo (2017) zistil oproti nám vysoký výskyt termorezistentných MO (930 KTJ v 1 ml) u bahníc. Prítomnosť sporotvorných anaeróbných MO v SOM sme zistili počas jari na šiestich farmách z 15, ale v lete už len na jednej z 9.

Tabuľka 1: Mikrobiologické charakteristiky surového ovčieho mlieka

Mikrobiologické charakteristiky (x10 ³ KTJ.ml ⁻¹)	jar (n=15)		leto (n=9)	
	priemer	geometrický priemer	priemer	geometrický priemer
CPM	132,13	87,71	309,78	217,01
Psychrotrofné MO	12,33	40,87	28,40	3,87
Koliformné MO	0,40	-	3,21	-
Termorezistentné MO v 1 ml	57,69	29,31	15,33	12,54
PSB (x10 ³)	1229,93	818,40	1450,3	770,25

KTJ – kolóniotvorné jednotky, CPM – celkový počet mikroorganizmov, MO – mikroorganizmy, PSB – počet somatických buniek

Počet koliformných baktérií ako indikátor hygieny vemena a fekálneho znečistenia počas dojenia mal priemernú hodnotu celého súboru 0,4x10³ KTJ.ml⁻¹ na jar

a $3,2 \times 10^3$ KTJ.ml⁻¹ v lete. Z hodnôt je zrejmy výrazný nárast koliformných baktérií medzi ročnými obdobiami, čo si vysvetľujeme daždivým počasím na severe Slovenska. Gonzalo (2017) uvádza ešte vyšší výskyt koliformných baktérií v surovom ovčom mlieku, až $6,5 \times 10^3$ KTJ.ml⁻¹.

Zistili sme vysoký počet somatických buniek u 50% sledovaných fariem nad 1000×10^3 buniek v 1 ml, avšak celkový počet mikroorganizmov bol u všetkých fariem do 500×10^3 KTJ v 1 ml. Martínez et al. (2018) aj Gonzalo (2017) uviedli nižšie hodnoty ako my. Navrhli sme opatrenia na odstránenie nedostatkov v sanitácii, zvoze a chladení ovčieho mlieka.

Záver

Množstvo mikroorganizmov v mlieku nám dáva celkový obraz o úrovni hygieny v prvovýrobe, pričom dodržiavaním zásad správnej hygienickej praxe je možné do značnej miery výskytu aj rozmnoženiu mikroorganizmov v mlieku zabrániť. Podľa druhu mikroorganizmov vyskytujúcich sa v mlieku môžeme zistiť zdroj kontaminácie a následne použiť správne postupy na ich elimináciu.

U malých prežúvavcov je hygiena mlieka dôležitá pre vážne ekonomické a sanitárne dôsledky pre farmárov, spracovateľský priemysel a spotrebiteľov kvôli vzájomným vzťahom medzi stratou produkcie, výťažnosťou pri výrobe syra, vyradeným mliekom (a jeho bezpečnému zneškodneniu) a následne bezpečnosť mliečnych potravín pre konzumenta.

Literatúra

- Carlioni, E., Petruzzelli, A., Amagliani, G., Brandi, G., Caverni, F., Mangili, P., Tonucci, F. 2016. Effect of farm characteristics and practices on hygienic quality of ovine raw milk used for artisan cheese production in central Italy. In *Animal Science Journal*, Volume 87, Number 4, p. 591-599. doi: 10.1111/asj.12452
- Ducková, V., Čanigová, M. 2004. Psychrotrofná mikroflóra mlieka. In *Mliekarstvo*, roč. 35, č. 3, s. 32-35.
- Foltys, V., Kirchnerová, K. 2012. Relation between Mesophilic and Psychrotrophic Aerobic Sporulating Microorganisms in Milk. In *Journal of Agricultural Science and Technology A*, volume 2, number 1, January, p. 97-103, ISSN 2161-6256.
- Gamčíková, K., Hanzelyová, A. 2009. Ovčie mlieko – aspekty ovplyvňujúce jeho mikrobiologickú kvalitu. In: *Slovenský veterinársky časopis*. roč. 34, 2009, č. 2, s. 99 – 101. ISSN 1335-0099.
- Gonzalo, C. 2017. Milk hygiene in small ruminants: A review. In *Spanish Journal of Agricultural Research*, 15 (4), e05R02, 20 p. <https://doi.org/10.5424/sjar/2017154-11727>
- Kološta, M., Drončovský, M. 2006. Mikrobiologická kvalita surového a tepelne ošetreného ovčieho mlieka. In: *Zborník prednášok a odborného seminára s medzinárodnou účasťou spojeného s workshopom „Chov oviec a výroba ovčieho mlieka na Slovensku“*. Nitra. 2006, s. 127 – 132. ISBN 80-969469-6-X.
- Kondyli, E., Svarnas, C., Samelis, J., Katsiari, M.C. 2012. Chemical composition and microbiological quality of ewe and goat milk of native Greek breeds. In *Small Ruminant Research*. Volume 103, Issues 2-3, p. 194-199. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.043>
- Martínez, J. A. De La V., Higuera, A. G., Esteban, M. R., Asensio, J. R., Delgado, M. C., Berruga I., Molina, A. 2018. Monitoring bulk milk quality by an integral traceability

system of milk. In *Journal of Applied Animal Research*, 46:1, 784-790, DOI: 10.1080/09712119.2017.1403327

Nariadenie Európskeho Parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 z 29. apríla 2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu

Nariadenie Komisie (ES) č.1662/2006, ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu.

Skapetas, B., Bampidis, V., Christodoulou, V., Kalaitzidou, M. 2017. Fatty acid profile, somatic cell count and microbiological quality of total machine milk and hand stripped milk of Chios ewes. In *Mljekarstvo*, Volume 67, Number 2, p. 146-154.

STN 57 05 10 (1995) Ovčie mlieko. Úrad pre normalizáciu, metrológiu a skúšobníctvo SR, 4 s.

STN ISO 4832: Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie počtu koliformných baktérií. Metóda počítania kolónií. Bratislava: SÚTN, 1997.

STN ISO 4833: Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie celkového počtu mikroorganizmov. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C. Bratislava: SÚTN, 1997.

STN ISO 6730 (57 0102). Stanovenie počtu jednotiek tvoriacich kolónie psychrotrofných mikroorganizmov metódou počítania kolónií vykultivovaných pri 6,5°C v mlieku.

Tančin, V., Apolen, D., Botto, Ľ., et al. 2013. Chov hospodárskych zvierat v marginálnych oblastiach. Centrum výskumu živočíšnej výroby Nitra, 1. vydanie Banská Bystrica: Tlačiareň PRESS GROUP, s. r. o., 174 s. ISBN 978-80-89418-26-8.

Vršková, M., Tančin, V., Uhrinčať, M., Mačuhová, L. 2017. The occurrence of hygienically important microorganisms in raw ewe's milk. In Book of abstracts of the 68th Annual Meeting of the EAAP Tallinn, Estonia, 28 August – 1 September 2017, First published, Wageningen Academic Publishers The Netherlands, p. 261, ISBN: 978-90-8686-312-9.

Pod'akovanie

Tento článok bol financovaný z projektu APVV-15-0072 „Genetika a epigenetika produkcie ovčieho mlieka na Slovensku”.

Kontaktná adresa

Ing. Martina Vršková, PhD.

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum - Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra

Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, Slovenská republika

e-mail: vrskova@vuzv.sk

Zhodnocení obsahu jodu v kravském mléce z farem *Evaluation of iodine content in cow's milk from farms*

Zachovalová, H., Hodulová, L., Vorlová, L.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Koncentrace mikroprvku jodu v mléce je velmi variabilní a závislá na různých faktorech. Cílem práce bylo získání dat o aktuální hladině jodu v syrovém kravském mléce z farem a zhodnocení variability hladin jodu v závislosti na velikosti farmy, způsobu hospodaření a ročního období. Průměrná hladina jodu v kravském mléce byla $136,52 \pm 38,72 \mu\text{g.l}^{-1}$. Mezi chovem konvenčním a ekologickým byly zaznamenány pouze číselné rozdíly ve prospěch konvenčních farem. Z výživového hlediska je možno kravské mléko považovat za dobrý zdroj jodu pro lidský organizmus.

Abstract

The concentration of iodine micronutrients in milk is very variable and depends on the various factors. The aim of the work was to obtain data on the current iodine level in raw cow's milk from farms and to assess the variability of iodine levels depending on farm size, type of farming and season. The mean actual iodine level in cow's milk was $136.52 \pm 38.72 \mu\text{g.l}^{-1}$. Between conventional and organic breeding, only numerical differences were found in favor of conventional farms. From the view of nutritional point, cow's milk can be considered as a good source of iodine for the human organism.

Klíčová slova: *obsah jodu, kravské mléko, konvenční mléko, organické mléko*

Úvod

Pro obsah jodu v organismu je rozhodující jeho příjem potravou. V České republice si mezi zdroji pro všechny populační skupiny drží prioritní postavení jodovaná sůl a hned za ní následuje mléko a jogurty (Řehůrková a Ruprich, 2013). Mléko je však z pohledu obsahu jodu problematické pro značnou variabilitu koncentrací jodu. Ta se pohybuje v závislosti na obsahu jodu v krmivu, jehož původ je daný přestupem do rostlin z půdy, ve vodě, na přidavku minerálních doplňků v krmné dávce, a také používáním jodových preparátů, sloužících jako dezinfekční prostředky struků. Právě tyto prostředky používané po dojení mohou způsobovat změny koncentrací jodu v mléce (Schöne at al., 2017; Soriguer at al., 2011). České země díky své geografické poloze a geologickým podmínkám patří mezi jodově deficitní oblasti. Průměrná hodnota jodu v mléce v první polovině minulého století byla velmi nízká a to pouze $30 \mu\text{g.l}^{-1}$. Minimální hodnoty byly odrazem absence suplementace krmiv jodem a nízkým obsahem jodu v půdě v ČR. V roce 2010 se důsledkem řešení jodového deficitu obsah jodu v mléce dojných krav v rámci suplementace krmiv zvýšil až na hodnotu $490 \mu\text{g.l}^{-1}$ (Kroupová et al., 2013). V následujících letech měl obsah jodu klesající tendenci, což je v souladu s regulací nadbytečného příjmu jodu mlékem v souvislosti s Nařízením Komise ES č. 1459/2005. Toto nařízení omezilo nadbytečné používání jodu v krmivech a premixech proto, aby se snížilo riziko jakýchkoliv nežádoucích účinků na lidské zdraví. Řehůrková a Ruprich (2013) uvádí z pohledu

dietární expozice hodnotu $200 \mu\text{g.l}^{-1}$, což odpovídá i opatření EU definovat optimální hodnotu obsahu jodu v mléce na $100 - 200 \mu\text{g.l}^{-1}$.

Materiál a metodika

Vzorky bazénového kravského mléka byly odebírány z 20 farem v České republice. Odběr vzorků se prováděl v pravidelných intervalech během laktačního období, s osmi odebranými vzorky z každé farmy. Farmy byly vybrány tak, aby pokryly celou plochu České republiky. Kromě konvenčních farem ($n = 12$) byly zastoupeny i farmy ekologické ($n = 8$). Farmy s chovem dojnic byly dle velikosti rozděleny na malé s počtem zvířat < 99 , střední s $100-300$ zvířat a velké s 300 a více zvířaty. Pro zhodnocení sezónnosti bylo rozdělení měsíců následující: jaro 3. až 5. měsíc; léto 6. až 8. měsíc; podzim 9. až 11. měsíc; zima 12. až 2. měsíc.

Analyzované vzorky mléka byly za dodržení chladírenského řetězce převezeny do laboratoří na FVHE Brno a do doby zpracování byly zamrazeny na teplotu -18°C . Těsně před analýzou proběhlo rozmrazení a homogenizace. Jod byl stanoven spektrofotometrickou metodou založenou na katalytickém působení jodidových iontů na oxidoredukční reakci Ce^{4+} a As^{3+} podle Sandell-Kolthoffa. Průběh reakce je funkcí hladiny jodu v roztoku, což umožňuje stanovení jodu z měření úbytku Ce^{4+} . Katalytická reakce je ukončena přidávkem brucinu, který tvoří s Ce^{4+} načervenalé chinoidní formy, jejichž absorbance se měří spektrofotometricky při 430 nm .

Získané hodnoty byly podrobené základní statistické charakteristice (průměr, směrodatná odchylka, medián, maximální hodnota, minimální hodnota a procentuální zastoupení) a pro posouzení závislosti vybraných parametrů byl vypočítán Pearsonův korelační koeficient za pomoci programu Microsoft Excel 2013. Rozdíly mezi skupinami byly testované na hladině významnosti $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$.

Výsledky a diskuze

Souhrnné hladiny jodu podle rozdělení na konvenční a ekologické jsou uvedeny v tabulce 1. Nebyl pozorován statisticky významný vliv konvenčního a ekologického hospodářství, ale mléko pocházející z ekologického hospodaření mělo hodnotově nižší koncentrace v porovnání s konvenčními farmami. Výsledky jsou v souladu se studii Stevenson et al., (2018); Bath et al., (2012); Payling et al. (2015) a Rey-Crespo (2012), které uvádí, že konvenční chovy dosahují vyšších hodnot jodu v mléce. Ekologické hospodaření omezuje používání minerálních doplňků a dále se zkrmuje více plodin obsahujících tzv. kyanogenní glykosidy, které ve větším množství mohou snižovat hladinu jodu v mléce. Tyto faktory mohou snižovat hodnoty jodu v ekologickém zemědělství až o 40% (Flachowsky, 2014; Norouzian et Azizi, 2013).

Tabulka 1: Hladiny jodu kravského mléka [$\mu\text{g.l}^{-1}$] podle rozdělení farem na konvenční a ekologické

Farma	průměr	SD	medián	max.	min.
Konvenční	142,25	41,58	152,13	236,20	45,49
Ekologická	119,13	40,56	123,59	172,12	60,63

K bližšímu statistickému zhodnocení byly konvenční farmy dojeného skotu rozděleny podle počtů dojnic na malé, střední a velké (tab. 2). Hladina jodu v mléce z velkých

farem byla statisticky významně vyšší ($P < 0,01$) oproti farmám malým a středním. Nejvyšší koncentrace jodu byla zaznamenána na velké farmě v Jihomoravském kraji a to $236 \pm 20 \mu\text{g.l}^{-1}$ a nejnižší hodnota $45 \pm 49 \mu\text{g.l}^{-1}$ byla zjištěna na jedné z malých farem v kraji Moravskoslezském. Co do velikosti farmy se množství jodu liší zejména kvůli managementu. Velké farmy dodržují přesné zásady chovu, oproti malým farmám, kde bývá volnější a variabilnější krmný plán.

Byla hodnocena také sezónnost, kdy obsah jodu byl podle ročního období následující: jaro $144 \pm 11 \mu\text{g.l}^{-1}$; léto $126 \pm 15 \mu\text{g.l}^{-1}$; podzim $140 \pm 13 \mu\text{g.l}^{-1}$; zima $144 \pm 14 \mu\text{g.l}^{-1}$. V případě dynamiky v průběhu laktace nebyl sezónní vliv pozorován a nebyly nalezeny žádné významné rozdíly ($P > 0,05$). Pouze v letním období byly zaznamenány nižší koncentrace jodu v odebíraných vzorcích, což koresponduje s daty uváděnými v literatuře (Vorlová at al., 2014; Walther at al., 2018).

Tabulka 2: Hladiny jodu kravského mléka [$\mu\text{g.l}^{-1}$] podle velikosti u konvenčních farem

Farma	průměr	SD	medián	max.	min.
Malá	117,20	46,18	118,47	199,12	45,49
Střední	136,10	13,46	135,39	157,73	112,28
Velká	174,68	35,28	166,53	236,20	119,65

Závěr

Optimální hladina jodu v mléce se odvíjí od správné saturace dojníc v prvovýrobě. Jako optimální hladina jodu v mléce, z hlediska dietární expozice odpovídající opatřením EU, je $100 - 200 \mu\text{g.l}^{-1}$. Optimálního rozmezí obsahu jodu v kravském mléce $100 - 200 \mu\text{g.l}^{-1}$ bylo dosaženo u více jak poloviny farem a to 56 %. Hodnoty jodu pod $100 \mu\text{g.l}^{-1}$ byly pouze u 22 % farem a stejně tak 22 % farem přesáhlo hranici nad $200 \mu\text{g.l}^{-1}$. Zjištěný obsah jodu v kravském mléce, pocházející z velkých konvenčních farem se z tohoto pohledu jeví jako vyhovující. Tato skutečnost je dána správným managementem krmení a optimalizací krmné dávky.

Literatura

Bath SC, Button S, Rayman, MP. Iodine concentration of organic and conventional milk: implication for iodine intake. *British Journal of Nutrition*, 2012, vol. 107, p. 935-940.

Flachowsky G, Schone F, Leitere M, Bemman D, Spolders M, Lebzien P. Influence and milk of cows. *Journal of Animal Feed Sciences*, 2007, vol 16, p. 18-25.

Kroupová V, Trávníček J, Staňková M, Richterová J, Dušová H. Dynamics of iodine concentration in bulk milk in CZ (in Czech). In *Sborník X. konference u příležitosti Dne jódu: Zásobení jódem jako prevence tyreopatií a zdroje dietární expozice*. České Budějovice, 2013, p. 32-33.

Nařízení Komise (ES) č. 1459/2005 ze dne 8. září 2005, kterým se mění podmínky pro povolení některých doplňkových látek v krmivech, které patří do skupiny stopových prvků [online], http://www.agroporadenstvi.cz/attachments/Narizeni_Komise_1459-2005.pdf

Noruzian MA, Azizi, F. Factors affecting iodine content in dairy cow's milk - a review. *European Journal of Food Research & Review*, 2013, vol 3, p. 63-73.

- Payling LM, Juniper DT, Drake C, Rymer C, Givens DI 2015: Effect of milk type at retail: implications for nutrition. *Food Chemistry*, 2015, vol 178, p. 327-330.
- Rey-Crespo F, Miranda M, López-Alonso M. Essential trace and toxic element concentrations in organic and conventional milk in NW Spain. *Food and Chemical Toxicology*, 2013, vol 55, p. 513–518.
- Řehůrková I, Ruprich J. Dietary supply of iodine to Czech population and its most important sources (in Czech). In *Sborník X. konference u příležitosti Dne jódu: Zásobení jódem jako prevence tyreopatií a zdroje dietární expozice*. České Budějovice, 2013, p. 13-19.
- Schöne F, Spörl K, Leiterer M. Iodine in the feed of cows and in the milk with a view to the consumer's iodine supply. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2017, vol 39, p. 202-209.
- Soriguer F, GutierrezRepiso C, Gonzalez Romero S, Olveira G, Garriga MJ, Velasco I, Santiago P, de Escobar GM, Garcia-Fuentes E 2011: Iodine concentration in cow's milk and its relation with urinary iodine concentrations in the population *Clinical Nutrition*, 2011, vol 30, p. 44-48.
- Stevenson MC, Drake C, Givens DI. Further studies on the iodine concentration of conventional organic and UHT semi-skimmed milk at retail in the UK. *Food Chemistry*, 2018, vol 239, p. 551-555.
- Vorlová L, Hodulová L, Borkovcová I, Přidalová H., Kostrhounová R., Klimešová-Vymětalová M., Šustová K. Iodine content in bulk tank milk samples in relation to dairy farm size, *Acta Veterinaria, Brno*. 2014, vol 83, p. 9-13.
- Walther B, Weschler D, Schlegel P, Haldimann M. Iodine in Swiss milk depending on production (conventional versus organic) and on processing (raw versus UHT) and the contribution of milk to the human iodine supply. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2018, vol 46, p. 138-143.

Poděkování

Tato práce byla podpořena z projektu Ministerstva zemědělství České republiky, NAZV KUS QJ 1230044 a za finanční podpory Interní grantové agentury IGA VFU Brno č. 25/2014/ FVHE.

Kontaktní adresa

Ing. Hana Zachovalová, Ph.D.
VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav hygieny a technologie mléka
Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno,
e-mail: zachovalovah@vfu.cz

Prílohy zo zemiakov – kontrola mikrobiologických kritérií počas doby ich uchovávania

Potato side dishes – control of microbiological criteria during their storage

Zeleňáková, L., Kolesárová, A., Angelovičová, M.
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

Cieľom práce bolo zhodnotiť dodržiavanie mikrobiologických kritérií počas doby uchovávania zemiakových príloh. Analyzovali sme 20 vzoriek, ktoré sme odoberali z jedálne študentského domova. Hodnotili sme 4 druhy zemiakových príloh hneď po výdaji a po 3 hodinách ich uchovávania pri teplote 60 °C (v zmysle legislatívy). Analyzovali sme baktérie ako *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, koliformné baktérie, vláknité mikroskopické huby, kvasinky a celkový počet mikroorganizmov. Prítomnosť koliformných baktérií sme zaznamenali iba v jednej vzorke opekaných zemiakov, a to v počte 1,9 KTJ.g⁻¹, ale až po 3 hodinách uchovávania. Kvasinky a vláknité mikroskopické huby sa v odobratých prílohách nachádzali len sporadicky. Počet *Clostridium perfringens* v zemiakových prílohách sa pohyboval v priemere od 1,34–1,79 log KTJ.g⁻¹ a počet *Bacillus cereus* v priemere od 1,44–1,97 log KTJ.g⁻¹ v závislosti od druhu zemiakovej prílohy a času mikrobiologickej analýzy. Výskyt skúmaných mikroorganizmov bol o trochu nižší v prílohách analyzovaných hneď po výdaji pokrmu a taktiež bol ovplyvnený surovinovým zložením jednotlivých príloh.

Abstract

The aim of our study was to evaluate compliance with the microbiological criteria during the storage of potato side dishes. We analysed 20 samples that we took from the school canteen. We have evaluated four kinds of potato side dishes immediately after sampling and subsequently after 3 hours of their storing at 60 °C (according to legislation). We analysed bacteria such as *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, coliform bacteria, fibromatous microscopic fungi and yeasts, and the total viable (TVC). We have recognised the presence of coliform bacteria only in one sample of roasted potatoes, where the coliform bacteria were present at 1.9 CFU.g⁻¹ but only after 3 hours of storage. We have found yeasts and fibromatous microscopic fungi only sporadically. The amount of *C. perfringens* in dishes was ranged on average from 1.34–1.79 log CFU.g⁻¹ and the number of *B. cereus* averaged from 1.44–1.97 log CFU.g⁻¹, depending on the kind of potato meals and the time of microbiological analysis. The occurrence of the examined microorganisms was a little lower in the meals analysed immediately after the sampling and it was influenced by the raw material composition of those side dishes.

Kľúčové slová: zemiaky, jedlo, kontrola, mikroorganizmy, hygiena

Úvod

Prevádzkovatelia stravovacích zariadení musia vedieť, aké dôležité a nevyhnutné je uplatňovať bezpečnú manipuláciu s potravinami v každom kroku prípravy jedla, aby mohli zabezpečiť bezpečné jedlo pre každú osobu (Marzano a Bazaretti, 2013; Zeleňáková et al., 2018). Kvalita a bezpečnosť zemiakových príloh závisí od kvality

zemiakov. Pri výrobe prílohy, kvalitu a bezpečnosť môžeme zabezpečiť aplikovaním Hazard Analysis and critical Control Points, teda HACCP systému a správnej hygienickej a výrobnjej praxe (Kafetzopoulos et al., 2013).

Na zdravotnú bezpečnosť zemiakových príloh vplýva už výber, preberanie a skladovanie surovín, ich spracovanie a konečné uchovávanie. Každá zásielka surovín do zariadenia spoločného stravovania, musí byť riadne prevzatá a skontrolovaná. Následne sú potraviny uložené v skladoch, pričom sa odporúča dodržiavať zásadu FIFO – „first in, first out“. Pribežná kontrola zásob je rovnako nevyhnutnou požiadavkou pre zabezpečenie hygienickej kvality (Petruzzelli et al., 2018).

Vacek a Bartačková (2012) uvádzajú, že mikroorganizmy nachádzajúce sa v zemiakoch a zemiakových výrobkoch sú početné a rôzne. Rovnako ako pri všetkých čerstvých produktoch, populácia týchto mikroorganizmov na zemiakoch sa môže líšiť v závislosti od podmienok prostredia (pestovanie, zber, manipulácie po zbere a spracovanie).

Zemiaky sú spracované do mnohých dehydrovaných foriem, napr. granúl, vločiek či prášku. Tieto zemiakové výrobky sa ľahko pripravujú zmiešaním s horúcou alebo vriacou vodou. Typické kroky spracovania dehydrovaných zemiakov zahŕňajú pranie, lúpanie, orezávanie, krájanie, varenie, pučenie a miešanie, chladenie a sušenie. Mikroorganizmy, ktoré sú odolné voči teplu a vysušaniu by mohli potenciálne prežiť proces dehydratácie a kontaminovať výsledný zemiakový produkt. Spórotvorné baktérie, *E. coli*, *S. aureus*, kvasinky a vláknité mikroskopické huby boli izolované z niektorých druhov sušených zemiakových výrobkov (Schmid, 2013; Willis et al., 2016).

Potravinárske výrobky na báze zemiakov zahŕňajú širokú škálu produktov, ktoré sa podávajú teplé alebo studené ako prílohy, občerstvenie a predjedlá v reštauráciách, kaviarňach, bufetoch, otvorených trhoch či baroch. Mnohé z týchto výrobkov sú pripravené z dehydrovaných, mrazených alebo inak spracovaných produktov zo zemiakov. Patrí tu najmä zemiaková kaša, hranolky, opekané zemiaky, krokety, gratinované zemiaky, pečené zemiaky, zemiaky v šupke a iné. V takýchto jedlách boli identifikované mnohé mikroorganizmy (koliformné baktérie, *B. cereus*, *S. aureus*) (Contzen, 2014).

Cieľom analýz bolo hodnotenie dodržiavania mikrobiologických kritérií počas doby uchovávania zemiakových príloh.

Materiál a metódy

Počas jedného roka v období od 1. 1. 2017 do 14. 2. 2018 sme každý mesiac v zmysle jedálneho lístka (spolu 5-krát po 4 vzorky) odoberali vzorky zemiakových príloh z jedálne študentského domova a následne ich na katedre hygieny a bezpečnosti potravín, FBP SPU v Nitre analyzovali. Sledovali sme počty koliformných baktérií, celkový počet mikroorganizmov (CPM), vláknité mikroskopické huby (VMH) a kvasinky, *Bacillus cereus* a *Clostridium perfringens* u 4 druhov zemiakových príloh (opekané zemiaky, varené zemiaky, zemiaková kaša, halušky). K dispozícii sme mali 20 vzoriek pokrmov, ktoré boli analyzované hneď po ukončení tepelného spracovania a dodaní do laboratória, ako aj po 3 hodinách uchovávaní v klimatickej komore pri 60 °C (v zmysle legislatívy). Použité metodické postupy na mikrobiologické analýzy sú uvedené v tab. 1.

Dosiahnuté výsledky sme spracovali do grafov a tabuliek, pričom v rámci matematicko-štatistickej analýzy sme vypočítali aritmetický priemer, x_{\min} , x_{\max} , smerodajnú odchýlku

a variačný koeficient. Pomocou t-testu sme určili preukaznosť medzi jedlami analyzovanými v čerstvom stave a tými po 3 hodinách uchovávaní.

Tabuľka 1: Charakteristika metodických postupov

Mikroorganizmus	Riedenie	Objem	Živná pôda	Kultivácia	STN/ISO
Koliformné baktérie	10 ⁻¹ , 10 ⁻² , 10 ⁻³	1 ml	VČŽL agar	30±1 °C, 24 h	STN EN ISO 4832
CPM	10 ⁻¹ , 10 ⁻² , 10 ⁻³	1 ml	PCA agar	30±1 °C, 72 h±3 h	ISO STN 4833
<i>Bacillus cereus</i>	10 ⁻¹ , 10 ⁻²	0,1 ml	MYP agar	30 °C, 20 h	STN EN ISO 7932
<i>Clostridium perfringens</i>	10 ⁻¹ , 10 ⁻²	1 ml	Sulfit-cykloserínový agar	37 °C, 20±2 h	STN EN ISO 7937
Kvasinky a vláknité mikroskopické huby	10 ⁻¹ , 10 ⁻²	1 ml	DRBC agar	25±1 °C, 5 dní	ISO 7954

Vysvetlivky: VČŽL (agar s kryštálovou vioľou, neutrálnou červeňou, žltými soľami a laktózou), PCA (Plate Count Agar), MYP (Modified MYP Agar Base), DRBC (živná pôda s dichlóranom, bengálskou červeňou a chloramfenikolom)

Výsledky práce a diskusia

Podľa Potravinového kódexu SR hotové pokrmy, ako aj zemiakové prílohy musia spĺňať mikrobiologické kritériá ustanovené v prílohe č. 5 k štvrtej hlave 2. časti PK. Výsledky našich analýz sme vyhodnotili podľa Výnosu č. 06267/2006 – SL, ktorý udáva maximálne hodnoty jednotlivých mikroorganizmov v hotových pokrmoch.

Mikrobiologickým vyšetrením vzoriek zemiakových príloh sme zistili, že výskyt koliformných baktérií v prílohách odobratých zo školskej jedálne nebol prítomný. Výnimkou bola iba jedna vzorka, a to opekané zemiaky, kde sa koliformné baktérie nachádzali v počte 1,9.10¹ KTJ.g⁻¹, ale až po 3 hodinách uchovávaní.

Doan a Davidson (2000), ktorí analyzovali mrazené zemiakové polotovary určené ako príloha k hlavným jedlám, izolovali koliformné baktérie z rôznych druhov polotovarov a najmä z opekaných zemiakov a hranoliek. Počty koliformných baktérií stanovili v rozmedzí od 1,00 do 4,98 log KTJ.g⁻¹ (v 37,5 % odobratých vzoriek).

Azevado et al. (2014) uvádzajú, že tento druh kontaminácie pochádza z niekoľkých zdrojov, ako sú: nedostatok hygieny, kontaminovaná voda, kontaminované čerstvé potraviny, potraviny kontaminované časticami pôdy, ruky manipulátorov s potravinami a taktiež prítomnosť hmyzu, ako sú muchy či šváby.

Celkový počet mikroorganizmov sa v závislosti od druhu jedla odobraného hneď po výdaji pohyboval priemere v priemere od 2,82±0,15 log KTJ.g⁻¹ do 3,28±0,15 log KTJ.g⁻¹. Po troch hodinách uchovávaní vzorky sa hodnota celkového počtu mikroorganizmov zvýšila najviac u varených zemiakov, a to o 32 % na hodnotu 3,74±0,15 log KTJ.g⁻¹. Najvyšší celkový počet mikroorganizmov hneď po odbere sme zaznamenali v zemiakovej kaši, kde priemerná hodnota z 5 odberov bola 3,28±0,15 log KTJ.g⁻¹. Po 3 hodinách uchovávaní dosiahla ešte vyššiu hodnotu a to 4,10 log KTJ.g⁻¹. Kompletne výsledky sú uvedené v tab. 2. Štatisticky veľmi vysoko preukazný rozdiel (P<0,001) medzi skupinami (A a B) sme zaznamenali u halušiek, naopak štatisticky nepreukazný vplyv uchovávaní jedla na výskyt CPM sme zistili u opekaných zemiakov (P>0,05). V ďalších dvoch jedlách boli rozdiely medzi skupinami štatisticky vysoko preukazné.

Výskyt vláknitých mikroskopických húb bol v našich vzorkách diferencovaný. Najvyššie hodnoty sme zistili v zemiakovej kaši (1,76.10¹ do 1,84.10¹ KTJ.g⁻¹).

Najmenej vláknitých mikroskopických húb sme zaznamenali v opekaných zemiakoch. Pokiaľ ide o kvasinky, väčšinou sme zistili hodnoty $<1 \text{ KTJ.g}^{-1}$, čo nasvedčuje tomu, že zemiakové prílohy boli čerstvo pripravené a bez kontaminácie. Len u dvoch vzoriek sme spozorovali nárast počtu kvasiniek po 3 hodinách uchovávaní z $<1 \text{ KTJ.g}^{-1}$ na $1,15$ a $1,23 \cdot 10^1 \text{ KTJ.g}^{-1}$. Najmenší počet kvasiniek sa vyskytoval v opekaných zemiakoch, čo môžeme pripisovať prítomnosti antimikrobiálnych látok z korenín.

Tabuľka 2: Matematicko-štatistické ukazovatele výskytu CPM v zemiakových prílohách

Ukazovateľ	CPM [$\log \text{KTJ.ml}^{-1}$]							
	Opekané zemiaky n = 5		Varené zemiaky n = 5		Zemiaková kaša n = 5		Halušky n = 5	
	A	B	A	B	A	B	A	B
\bar{x}	3,18	3,73	2,82	3,74	3,28	4,10	3,15	3,91
x_{\min}	2,93	3,21	2,59	2,89	3,00	3,62	2,86	3,78
x_{\max}	3,55	4,17	2,98	4,17	3,54	4,39	3,34	4,14
s_x	0,22	0,40	0,16	0,50	0,23	0,28	0,18	0,16
v [%]	7,09	10,88	5,76	13,38	7,20	7,04	5,89	4,17
Preukaznosť podľa t-testu	1,42 ⁻		3,88 ⁺⁺		2,88 ⁺⁺		6,9 ⁺⁺⁺	
Vysvetlivky:	A – čerstvo pripravené				B – po 3 hodinách uchovávaní			
	+++ : štatisticky veľmi vysoko preukazný rozdiel medzi skupinami podľa t-testu ($P < 0,001$),							
	++ : štatisticky vysoko preukazný rozdiel medzi skupinami podľa t-testu ($P < 0,01$),							
	+ : štatisticky preukazný rozdiel medzi skupinami podľa t-testu ($P < 0,05$),							
	- : štatisticky nepreukazný rozdiel medzi skupinami podľa t-testu ($P > 0,05$)							

V súvislosti s našimi výsledkami Hudecová a Šimkovič (2009) uvádzajú, že kvasinky oproti baktériám nie sú schopné rýchleho rozmnožovania a môžu s nimi súťažiť len v takých podmienkach, ktoré sú nepriaznivé pre baktérie ako nízky oxidoredukčný potenciál alebo nízke pH.

Tabuľka 3: Matematicko-štatistické ukazovatele výskytu *Bacillus cereus* v zemiakových prílohách

Ukazovateľ	<i>Bacillus cereus</i> [$\log \text{KTJ.ml}^{-1}$]							
	Opekané zemiaky n = 5		Varené zemiaky n = 5		Zemiaková kaša n = 5		Halušky n = 5	
	A	B	A	B	A	B	A	B
\bar{x}	1,46	1,81	1,61	1,81	1,83	1,97	1,44	1,77
x_{\min}	1,24	1,69	1,45	1,63	1,47	1,85	1,34	1,72
x_{\max}	1,69	1,94	1,77	2,04	2,06	2,06	1,65	1,84
s_x	0,16	0,10	0,12	0,15	0,22	0,08	0,12	0,05
v [%]	11,25	5,80	7,86	8,63	12,01	4,12	8,34	2,97
Preukaznosť podľa t-testu	1,69 ⁻		1,05 ⁻		1,57 ⁻		2,7 ⁺	
Vysvetlivky:	A – čerstvo pripravené				B – po 3 hodinách uchovávaní			
	+++ : štatisticky veľmi vysoko preukazný rozdiel medzi skupinami podľa t-testu ($P < 0,001$),							
	++ : štatisticky vysoko preukazný rozdiel medzi skupinami podľa t-testu ($P < 0,01$),							
	+ : štatisticky preukazný rozdiel medzi skupinami podľa t-testu ($P < 0,05$),							
	- : štatisticky nepreukazný rozdiel medzi skupinami podľa t-testu ($P > 0,05$)							

Medzná výstražná hodnota počtu pre sulfiredukujúce klostrídie v ustanovenom množstve vzorky čerstvých hotových pokrmov tepelne opracovaných podľa Výnosu MP a MZ SR č. 06267/2006–SL je 50 KTJ.g⁻¹. Tento výnos ďalej udáva že množstvo mikroorganizmov, ktoré sa pripúšťa z rozsahu výberu nesmie byť preukázateľné pri zaliatí alebo roztere 1,0 ml riedenej vzorky. Vzorky, ktoré sme odobrali z jedálne ŠD nevyhovovali základným hygienickým kritériám už v čase odberu vzorky pri výdaji (1,86 log KTJ.g⁻¹) . Uchovávaním vzorky počas 3 hodín sa počty ešte zvýšili (2,14 log KTJ.g⁻¹). Z tab. 3 vyplýva, že výskyt *Bacillus cereus* v zemiakových prílohách analyzovaných hneď po výdaji a následne po 3 hodinách sa líšil v závislosti od druhu prílohy. Štatisticky preukázaný rozdiel medzi skupinami A a B sme zaznamenali u halušiek, naopak štatisticky nepreukázaný vplyv uchovávanía jedla na výskyt *Bacillus cereus* sme zistili u ostatných troch príloh (P>0,05). Priemerné hodnoty sa pohybovali v intervale od 1,44±0,12 log KTJ.g⁻¹ do 1,97±0,08 log KTJ.g⁻¹. Minimálna hodnota *Bacillus cereus* bola u opekaných zemiakoch a to 1,24±0,16 log KTJ.g⁻¹ a maximálna u zemiakovej kaši s hodnotou 2,06±0,22 log KTJ.g⁻¹.

Z hygienického hľadiska sa neodporúča konzumovať zemiakové prílohy uchovávané dlhšie ako 12 hodín, pretože v nich hrozí riziko rozvoja nežiaducich mikroorganizmov a tým ohrozenie zdravia konzumenta. Vyhláška MZ SR č. 125/2017, stanovuje uchovávanie zemiakových príloh maximálne 12 hodín pri teplote 0 – 4 °C.

Záver

Cieľom práce bolo zhodnotiť mikrobiologické kritériá zemiakových príloh podávaných v jedálni študentského domova v kontexte ich uchovávanía podľa požiadaviek platnej slovenskej legislatívy. Zisťovali sme prítomnosť koliformných baktérií, vláknitých mikroskopických húb, kvasiniek, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* a celkový počet mikroorganizmov. Koliformné baktérie sme zaznamenali len v opekaných zemiakoch (1,9.10¹ KTJ.g⁻¹), a to až po 3 hodinách uchovávanía vzorky. Výskyt vláknitých mikroskopických húb a kvasiniek bol v jednotlivých vzorkách diferencovaný. Rizikovejším pokrmom bola zemiaková kaša, naopak, v opekaných zemiakoch boli počty uvedených mikroorganizmov podstatne nižšie. Celkový počet mikroorganizmov sa v závislosti od druhu jedla odobraného hneď po výdaji pohyboval priemere v priemere od 2,82±0,15 log KTJ.g⁻¹ do 3,28±0,15 log KTJ.g⁻¹. Spórotvorné mikroorganizmy (*Clostridium perfringens* a *Bacillus cereus*) sa v zemiakových prílohách vyskytovali už pri výdaji, čo je z hygienického hľadiska neprípustné. Najvyššie hodnoty boli opäť v zemiakovej kaši.

V kontexte s našimi výsledkami navrhujeme, aby zamestnanci študentských jedální:

- dodržiavali technologické postupy pri príprave pokrmov a postupy pre správne uchovávanie pokrmov pred výdajom,
- dbali na hygienu pri výdaji a servírovaní pokrmov a na osobnú hygienu,
- dôkladne vykonávali čistenie, sanitáciu a predchádzali krížovej kontaminácii.
-

Literatúra

Azevado, I., Albano, H., Silva, J. et al. 2014. Food safety in the domestic environment. In *Food Control* [online], vol. 37, no. 2, pp. 272-276 [cit. 2018-03-10]. ISSN 0956-7135. Dostupné na: 10.1016/j.foodcont.2013.09.058.

- Contzen, M., Hailer, M., Rau, J. 2014. Isolation of *Bacillus cytotoxicus* from various commercial potato products. In *International Journal of Food Microbiology* [online], vol. 174, no. 4, pp. 19-22 [cit. 2018-03-09]. ISSN 0168-1605. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.12.024>.
- Doan, H. G., Davidson, P. M. 2000. Microbiology of Potatoes and Potato Products: A Review. In *Journal of Food Protection* [online], vol. 63, no. 5, pp. 668-683 [2018-03-09]. ISSN 1944-9097. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.5.668>.
- Hudecová, D., Šimkovič, M. 2009. *Mikrobiológia*. Bratislava : STU. 293 s. ISBN 978-80-227-3194-2.
- Kafetzopoulos, D. P., Psomas, E. L., Kafetzopoulos, P. D. 2013. Measuring the effectiveness of the HACCP food safety management system. In *Food Control* [online], vol. 33, no. 2, pp. 505-513 [cit. 2018-03-15]. ISSN 0956-7135. Dostupné na: DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.03.044.
- Marzano, M. A., Balzaretto, C. M. 2013. Protecting child health by preventing school-related foodborne illnesses: microbiological risk assessment of hygiene practices, drinking water and ready-to-eat foods in Italian kindergartens and schools. In *Food Control* [online], vol. 34, no. 2, pp. 560-567 [cit. 2018-02-25]. ISSN 0956-7135. Dostupné na: 10.1016/j.foodcont.2013.05.031.
- Petruzzelli, A., Osimani, A., Tavoletti, S. et al. 2018. Microbiological quality assessment of meals and work surfaces in a school-deferred catering system. In *International Journal of Hospital Management* [online], vol. 68, , pp. 105-114 [cit. 2018-03-15]. ISSN 0278-4319. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.ijhm.2017.10.003>.
- Schmid, D. et al. 2013. Elucidation of enterotoxigenic *Bacillus cereus* outbreaks in Austria by complementary epidemiological and microbiological investigations. In *International Journal of Food Microbiology* [online], vol. 232, no. 5, pp. 80-86 [cit. 2018-03-09]. ISSN 0168-1605. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.05.011>
- Vacek, J., Bartačková, V. 2012. *Skladování brambor: skladování konzumních hlíz pro zpracování na smažené výrobky z brambor*. Havlíčkův Brod : Výzkumný ústav bramborářský. 86 s. ISBN 978-80-86940-39-7.
- Vyhláška MZ SR č. 125/2007, ktorou sa mení a dopĺňa vyhláška MZ SR č. 533/2007 Z. z. o podrobnostiach o požiadavkách na zariadenia spoločného stravovania.
- Výnos MP SR a MZ SR č. 06267/2006-SL, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu upravujúca mikrobiologické požiadavky na potraviny a na obaly na ich balenie.
- Willis, C., Mclauchlin, J., Amar, C. 2016. Assessment of the microbiological safety of precut fruit from retail and catering premises in the United Kingdom. In *Journal of Food Protection* [online], vol. 79, no. 4, pp. 598-604 [cit. 2018-03-09]. ISSN 0362-028X. Dostupné na: 10.4315/0362-028X.JFP-15-460.
- Zeleňáková, L., Čapla, J., Zajác, P. 2018. *Hygiena výživy a stravovania*. Uplatňovanie hygienických zásad v zariadeniach spoločného stravovania. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita. 303 s. ISBN 978-80-552-1806-9.

Pod'akovanie

Práca bola uskutočnená aj vďaka finančnej podpore projektu KEGA č. 007SPU-4/2017.

Kontaktná adresa

doc. Ing. Lucia Zeleňáková, PhD., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: Lucia.Zelenakova@uniag.sk

Ing. Anna Kolesárová, PhD., Katedra skladovania a spracovania rastlinných produktov, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: Anna.Kolesarova@uniag.sk

prof. Ing. Mária Angelovičová, CSc., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: Maria.Angelovicova@uniag.sk

Texturálne vlastnosti syrov vyrobených z kravského a ovčieho mlieka *Textural properties of cheese made from cow and sheep milk*

Zeleňáková, L., Angelovičová, M., Čanigová, M.
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

Cieľom práce bola analýza a porovnanie vybraných texturálnych vlastností syrov vyrobených z kravského a ovčieho mlieka. Vzorky syrov (6 druhov) boli odoberané a analyzované vo februári 2018. Tvrdosť, žutelnosť, elasticita a konzistencia boli analyzované prístrojom TA.XT plus Texture Analyser. Výsledky ukázali, že najvýraznejšie rozdiely medzi syrmi boli v texturálnych vlastnostiach tvrdosť a žutelnosť. Najvyššia tvrdosť bola zaznamenaná u čerstvej ovčej fety, pričom jej naložením do nálevu sa tvrdosť podstatne znížila (o 3,36 g). Výraznejšie varíovanie hodnôt jednotlivých parametrov bolo zistené u kravských syrov, čo bolo pravdepodobne spôsobené rôznou hrúbkou nití a tyčíniek.

Abstract

The aim of this work was to analyse and compare the selected textural properties of cow and sheep cheese obtained from a Slovak farm. Cheese samples (6 kinds) were collected and analysed in February 2018. Hardness, chewiness, extensibility and consistency were investigated by laboratory equipment TA.XT plus Texture Analyser. The results shown that the most significant differences between cheeses were found in hardness and chewiness. The highest hardness reached sheep cheese feta (4.77 g). However, hardness was reduced by 3.36 g in feta cheese stuffed in the brine. The value of individual textural parameters varied more in cow cheese in comparison with sheep cheese. This aspect could be probably due to the different thickness of the threads and sticks.

Kľúčové slová: *ovčie syry, kravské syry, mlieko, texturálne vlastnosti*

Úvod

Syr je jednou z najstarších fermentovaných potravín. Proces fermentácie syra súvisí s kultúrou a tradíciou, najmä vo vidieckych domácnostiach a dedinských komunitách. Syr sa vyrába a konzumuje po tisíce rokov a jeho technológia výroby bola upravená vzhľadom na technické, sociálne a ekonomické podmienky v rôznych častiach sveta. Navyše technologické procesy spojené s výrobným prostredím formujú chemické a mikrobiologické zloženie miestnych syrov, ktoré následne získavajú vizuálne, chuťové a texturálne vlastnosti (Cerqueira et al., 2016; Dugat-Bony et al., 2016). Ako uvádza Gradinaru et al. (2015) pojem syr znamená zrejúci alebo nezrejúci mäkký, polotvrдый, tvrdý alebo extra tvrdý mliečny výrobok, v ktorom pomer srvátkových bielkovín ku kazeínu nepresahuje pomer týchto bielkovín v mlieku. Môže sa vyrábať úplným, alebo čiastočným vyzrážaním bielkovín z kravského, ovčieho alebo kozieho mlieka. Medzi najstaršie syry na svete podľa Kopáčka (2009) patria syry zrejúce v soľnom roztoku. Medzi tieto druhy syrov patrí aj syr feta. Ridgwayová (2001) konštatuje, že originálny syr feta nikdy nezohltne a ponúka sa konzumentovi mäkkej a tvrdej konzistencie. Tento druh syra získal v roku 2002 známku originality, z čoho vyplýva, že má chránený pôvod. V ostatných rokoch bolo publikovaných niekoľko

vedeckých prác, ktoré obsahujú výsledky skúmania štruktúry syrov s využitím senzorickej a reologickej analýzy (Everard et al., 2006; Chen et al., 2013). Cieľom práce bola analýza a porovnanie vybraných texturálnych vlastností syrov vyrobených z kravského a ovčieho mlieka.

Materiál a metódy

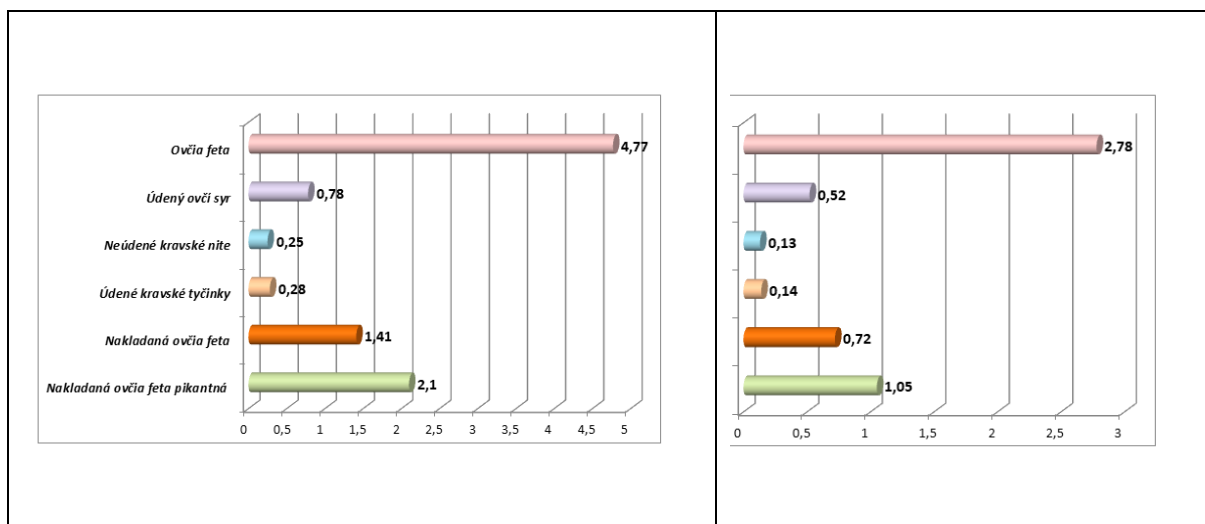
Syry vyrobené z kravského a ovčieho mlieka boli vyrobené priamo na farme (východné Slovensko) počas maštalného chovu v zimnom kŕmnom období. Vzorok syrov (čerstvá ovčia feta, údený ovčí syr, neúdené kravské nite, údené kravské tyčinky, nakladaná ovčia feta, nakladaná ovčia feta pikantná) boli odobraté a analyzované vo februári 2018. Čerstvo vyrobené syry boli analyzované hneď po odbere, tie nakladané po 5 dňoch. Tvrdosť, konzistencia, elasticita a žuteľnosť syrov boli analyzované pomocou prístroja TA.XT plus Texture Analyser (Stable Micro Systems Ltd, Veľká Británia) na Katedre hygieny a bezpečnosti potravín, SPU v Nitre. Zo syrov feta a údených ovčích syrov boli odkrojené vzorky v tvare kocky o rozmeroch 2x2 cm z rôznych miest a rôznej hĺbky. V prípade kravských syrov boli merané stále 3 nite, resp. tyčinky o dĺžke 0,8 mm odkrojené z rôznych miest. Výsledok bol automaticky graficky zaznamenávaný softvérovým programom v počítači. Rozdiely medzi jednotlivými druhmi syrov boli hodnotené podľa Scheffeho testu ($P < 0,05$). Na analýzu uvedených parametrov bol použitý program SAS (verzia 8.2).

Tabuľka 1: Nastavenie prístroja na meranie

Sekvencia, názov: 5-krát opakovanie, až do snímania	Vzdialenosť: 5,0 mm
Skúšobný režim: stláčanie	Namáhanie: 10,0 %
Test rýchlosti pred meraním: 40,00 mm.s ⁻¹	Typ spúšťača: automatické (sila)
Test rýchlosti: 5,00 mm.s ⁻¹	Snímanie sily (spúšťač): 5,0 g
Test rýchlosti po meraní: 5,00 mm.s ⁻¹	Sondy: SMS P/1S, P/36R, A/CE
Režim smerného čísla: sila 100,0 g	Body za sekundu: 500

Výsledky a diskusia

Analýza texturálnych vlastností jednotlivých syrov bola zameraná na tvrdosť, žuteľnosť, konzistenciu a elasticitu. Výsledky jednotlivých analýz sú uvedené v grafoch 1 a 2 (A – D), resp. v tabuľkách 2 a 3 (štatistické hodnotenie vybraných ukazovateľov). Pri meraní fyzikálnych vlastností potravín, ako je ich štruktúra a texturálne vlastnosti pomocou prístrojov, sa zvažujú kombinácie reologického merania s mechanickými (lomovými) vlastnosťami. Meranie sa uskutočňuje podľa základných alebo empirických testov, výsledkom ktorých je niekoľko fyzikálnych vlastností, ako je tvrdosť alebo skladovací model potravín (Lucey et al., 2003).



Grafy 1: Priemerná tvrdosť (A) a žuteľnosť (B) syrov [g]

Zaujímavé, porovnateľné výsledky boli získané analýzou tvrdosti a žuteľnosti syrov. Ako vyplýva z grafu 1A, najvyššia tvrdosť bola zaznamenaná u čerstvej ovčej fety, pričom jej naložením do nálevu sa tvrdosť podstatne znížila (o 3,36 g). Tento trend s menším rozdielom bol zistený aj pri analýze žuteľnosti. Domnievame sa, že je to pravdepodobne spôsobené zrením syrov, resp. štiepením bielkovín, ktoré priamo vplývajú na zmenu týchto vlastností. V prípade syrov vyrobených z kravského mlieka (nite a tyčinky) boli hodnoty tvrdosti podstatne nižšie (0,25 a 0,28 g), čo súvisí s tým, že ide o syry parené, ktoré vzhľadom na technológiu výroby majú aj väčšiu konzistenciu. V rámci matematicko-štatistického hodnotenia tvrdosti najvýraznejšie varíovali výsledky práve u kravských syrov ($v_k = 46,64\%$), čo mohlo byť pravdepodobne spôsobené rôznou hrúbkou nití a tyčiniek. U ovčích syrov boli hodnoty v_k podstatne nižšie (okolo 10%). Treba zdôrazniť, že vzorky pochádzali z malej farmy – mliekare. Častým problémom v takýchto prevádzkach je nedodržovanie technologických postupov výroby, resp. nezavedenie štandardizovaných postupov, ktoré by nedostatky eliminovali.

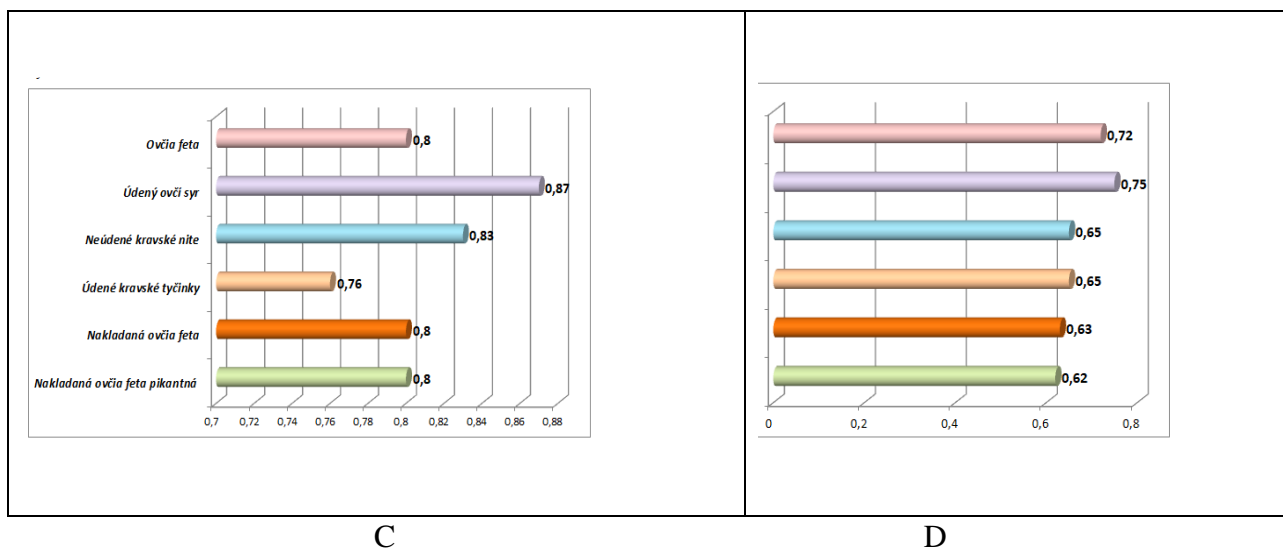
Tabuľka 2: Štatistické vyhodnotenie rozdielov tvrdosti medzi ovčimi a kravskými syrmi podľa Scheffeho testu $P_{0,05}$

F-test	105,32 ⁺⁺⁺				
	Ovčí údený syr	Neúdené kravské nite	Údene kravské tyčinky	Nakladaná ovčia feta	Nakladaná ovčia feta pikantná
Ovčia feta	+	+	+	+	+
Ovčí údený syr		-	-	-	+
Neúdené kravské nite			-	+	+
Údené kravské tyčinky				+	+
Nakladaná ovčia feta					-

⁺ $P < 0,05$ – štatisticky preukazný rozdiel medzi ovčimi a kravskými výrobkami

⁻ $P > 0,05$ – štatisticky nepreukazný rozdiel medzi ovčimi a kravskými výrobkami

Vyhodnotením merania elasticity ovčích a kravských syrov bolo zistené, že jej hodnoty sa pohybovali od 0,76 g (údené kravské tyčinky) do 0,87 g (údený ovčí syr). Ešte porovnateľnejšie výsledky zistené analýzou konzistencie (grafy 2D). Výsledky štatistickej charakteristiky dokumentujú, že kolísanie hodnôt elasticity ovčích a kravských syrov bolo pomerne nízke, o čom svedčia výsledky variačného koeficienta $v_k = 1,07\%$ (ovčí údený syr) až $v_k = 6,08\%$ (údené kravské tyčinky).



Grafy 2: Priemerná elasticita (C) a konzistencia (D) syrov [g]

Tabuľka 3: Štatistické vyhodnotenie rozdielov konzistencie medzi ovčimi a kravskými syrmi podľa Scheffeho testu $P_{0,05}$

F-test	19,48 ⁺⁺⁺					
	Ovčí údený syr	Neúdené kravské nite	Údené kravské tyčinky	Nakladaná ovčia feta	Nakladaná ovčia feta pikantná	
Ovčia feta	-	+	+	+	+	
Ovčí údený syr		+	+	+	+	
Neúdené kravské nite			-	-	-	
Údené kravské tyčinky				-	-	
Nakladaná ovčia feta						-

⁺ $P < 0,05$ – štatisticky preukazný rozdiel medzi ovčimi a kravskými výrobkami

^P $> 0,05$ – štatisticky nepreukazný rozdiel medzi ovčimi a kravskými výrobkami

Donelly (2004) uvádza, že niektoré senzorické vlastnosti syrov, hlavne chuť a druh sú ovplyvnené druhom použitého mlieka pri výrobe, obsahom tuku v sušine, použitím baktérií a mikroskopických vláknitých húb, ako aj spôsobom spracovania a dĺžkou zrenia.

Rozdiely v reologických vlastnostiach syrov vyrobených z rôznych druhov mlieka môžu vzniknúť vplyvom rôznych kazeínových štruktúr alebo ich koncentrácie v mlieku. Iní autori skúmali tvrdosť syrov v závislosti od doby skladovania (Karami et al., 2009). Aj keď hodnotené syry preukázali pokles hodnoty pH v priebehu doby skladovania, v profile tvrdosti nevykázali zmeny. Autori túto skutočnosť odôvodňujú tým, že syry neboli zrelé a metabolická aktivita pri teplote 10 °C bola obmedzená. Syry s nižšími

hodnotami pH, najmä blízke izoelektrickému bodu kazeínu, majú textúru s vysokou gumovitosťou, zatiaľ čo syry s vyššími hodnotami pH predstavovali viac plastickú textúru (Bhaskaracharya a Shah, 2001). Obsah vody v syre je dôležitým faktorom, ktorý ovplyvňuje štruktúru syrov, pretože vysoký počiatkový obsah vody oslabuje funkciu bielkovín v textúre, čo sa prejaví zníženou tvrdosťou (Buriti et al., 2005). Na tvrdosť syrov vplýva aj proteolýza (Chilliard et al., 2006).

V kontexte s našimi výsledkami chceme zdôrazniť, že texturálne vlastnosti syrov ovplyvňuje viacero faktorov (kvalita mlieka, spôsob spracovania, hygiena a pod.). Tie však v rámci riešenia práce neboli osobitne skúmané.

Záver

Výroba syrárskych špecialít na Slovensku, a to vrátane ovčích syrárskych špecialít nie je zanedbateľná. Tvorí už takmer 30 % podiel zo všetkých vyrobených syrov a získava stále viac na význame. Ich význam nie je len imidžotvorný pre turistov a zahraničný obchod, ale má veľký prínos i na rozvoji vidieka, na sociálny program, na udržanie tradícií a taktiež na zabezpečení zdravej výživy. Syrárske špeciality sa v zahraničí, ale aj u nás nevyrábajú len vo veľkých mliekarniach, ale aj v malých prevádzkach a na farmách. Spôsob spracovania mlieka sa značne vyvíja, diverzifikuje a mení. Všetky prevádzky, bez ohľadu na kapacitu, vyrábaný sortiment, musia plniť základné požiadavky tzv. „hygienického balíčka“, musia dodržiavať legislatívne predpisy v oblasti technologického spracovania mlieka a nesmú podceňovať pravidelnú kontrolu kvalitatívnych a hygienicko-zdravotných parametrov.

Literatúra

- Bhaskaracharya, R. K., Shah, N. P. 2001. Texture and microstructure of skim milk Mozzarella cheeses made using fat replacers. In *Austr. Journal of Dairy Technology*, roč. 56, 2001, s. 9-14.
- Buriti, F. C. A., Rocha, J. S., Saad, S. M. I. 2005. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. In *International Dairy Journal*, roč. 15, 2005, s. 1279-1288.
- Cerqueira, M. A. P., Pereira, R. N. C. P., Da Silva Ramos, O. L., Texeira, J. A. C., Vicente, A. A. 2016. Multi criteria evaluation for milk and milk products. 1. vyd. CRC Press. 469 s. ISBN9781482234220.
- Donnelly, C. W. 2004. Growth nad survival of microbial pathogens in cheese. In FOX, P., Sweeney, P., Cogan, T., Guinee, T. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Hardbound : Academic Press. s. 541-559. ISBN 0-1226-3652-X.
- Dugat-Bony, E., Garnier, L., Denofoux, J., Ferreira, S., Sarthou, A., Bonnarme, P., Irlinger, F. 2016. Highlighting the microbial diversity of 12 French cheese varieties. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 238, č. 5, s. 265-273.
- Everard, C. D., O'callaghan, D. J., Howard, T. V., O'donnell, C. P., Shennhan, E. M., Delahunty, C. M. 2006. Relationships between sensory and rheological measurements of texture in maturing commercial Cheddar cheese over a range of moisture and pH at the point of manufacture. In *Journal of Texture Studies*, roč. 37, 2006, s. 361-382.
- Gradinaru, A. C., Creanga, S., Solcan, G. 2015. Milk – a review on its synthesis, composition, and quality assurance in dairy industry. In *International Journal of the Bioflux Society BMJ*, roč. 7, č. 3, s. 1-13.
- Chen, L., Opara, U. L. 2013. Texture measurement approaches in fresh and processed foods: a review. In *Food Research International*, roč. 51, 2013, s. 823-835.
- Chilliard, Y., Rouel, J., Leroux, C. 2006. Goat's a-s1 casein genotype influences its milk fatty acid composition and D-9 desaturation ratios. In *Animal Feed Science and Technology*, roč. 131, 2006, s. 474-487.

Karami, M., Ehsani, M. R., Mousavi, S, M., Zezaei, K., Safari, M. 2009. Changes in the rheological properties of Iranian UF-Feta cheese during ripening. In Food Chemistry, roč. 112, s. 539-544.

Kopáček, J. 2009. Evropské sýry s chráněným označením část. 1, Potravinářská revue 4, 2009, s. 1-64.

Lucey, J. A., Johnson, M. E., Horne, D. S. 2003. Invited review: perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. In *Journal of Dairy Science*, roč. 86, 2003, s. 2725-2743.

Ridgwayová, J. 2001. *Sýry: průvodce světem sýrů*. 1. vyd. Praha : Fortuna Print, 2001. 288 s. ISBN 80-86144-65-8.

PodĎakovanie

Práca bola uskutočnená aj vďaka finančnej podpore projektov APVV-16-0244 a KEGA č. 007SPU-4/2017.

Kontaktná adresa

doc. Ing. Lucia Zelenáková, PhD., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: Lucia.Zelenakova@uniag.sk

prof. Ing. Mária Angelovičová, CSc., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: Maria.Angelovicova@uniag.sk

doc. Ing. Margita Čanigová, CSc., Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: Margita.Canigova@uniag.sk

Kontaminované ruky ako potenciálna hrozba pre bezpečnosť potravín

Contaminated hands as a potential threat to food safety

Zeleňáková, L., Kunová, S., Lopašovský, Ľ.
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

Cieľom práce bolo vyhodnotiť vplyv nečistých úkonov na kontamináciu rúk. Zamerali sme sa na 4 druhy znečistenia: neumytie rúk po použití WC (A), kýchanie (B), dotyk kľučiek (C) a kontakt s odpadom (D). Vo vzorkách, ktoré sme odobrali sterovou metódou z rúk sme sledovali celkový počet mikroorganizmov (CPM), počet koliformných baktérií (KB) a počet vláknitých mikroskopických húb (VMH). Hodnoty CPM na rukách boli najvyššie po kontakte s odpadom (9,36 log KTJ.cm⁻²). Najvyššie priemerné počty KB sa vyskytli na rukách po kontaminácii rúk po použití WC (A), kde na rukách vykazovali hodnotu 4,91 log KTJ.cm⁻². Štatisticky preukazný rozdiel (P<0,05) bol medzi kontrolou (K) a ostatnými znečisteniami (A,B,C,D), ako aj medzi znečistením rúk po použití WC (A) a kýchaním (B). Naopak medzi jednotlivými štyrmi znečisteniami nebol štatisticky preukazný rozdiel (P>0,05). Pri hodnotení VMH sme zistili najväčší nárast po kontaminácii rúk po použití WC (A). Na rukách dosahovali počet 2,81 log KTJ.cm⁻². Z výsledkov vyplýva, že akýkoľvek druh znečistenia, ktorému sme sa venovali v našej práci, vplýva na znečistenie rúk zamestnancov a na potraviny, s ktorou manipulujú.

Abstract

The goal of our work was to evaluate the impact of uncleaned activities on hand contamination. We focused on 4 kinds of uncleaned activities, including: contamination of hands after using the toilet (A), sneezing (B), contact with handle (C) and contact with garbage (D). Continuously, on the samples, which were taken by swab method from hands and meat, we watched total viable count (TVC), number of coliform bacteria (CB) and the number of microscopic filamentous fungi (MFF). The value of TVC was the highest at contact with garbage (9.36 log CFU.cm⁻²). The highest average count of CB's occurred on the hands after contamination by don't wash hands after using the toilet (A), showing 4.91 log CFU.cm⁻² on hands. Statistically significant difference (P<0.05) was between control (K) and other contaminations (A, B, C, and D) as well as between contamination of hands after using toilet (A) and sneezing (B). On the contrary, there was no statistically significant difference between the four contaminations (P>0.05). We found the highest increase in contamination after using the toilet (A) in the MFF assessment. (2.81 log CFU.cm⁻²). The results show, that any kind of uncleaned activity we have done in our work, effects on the contamination of hands of food handlers and the food they manipulate with.

Kľúčové slová: ruky, kontaminácia, mikroorganizmy, potraviny, čistota

Úvod

Pracovníci manipulujúci s potravinami sú povinní dodržiavať vysoký stupeň osobnej hygieny a nosiť vhodný ochranný odev, pokrývku hlavy a obuv. Poranenia a rany, s ktorými bolo pracovníkom dovolené pracovať, musia byť zakryté vhodnými nepremokavými obväzmi (Zajác et al. 2009).

Na obmedzenie prenosu patogénov je najlepšou použitie vhodných fyzických bariér, napr. dizajn budov, náradie, rukavice, pokrývka na vlasy a efektívna politika hygieny rúk. Napriek tomu zamestnanci neustále zabudnú na dôkladné umývanie rúk, alebo to vykonávajú neúčinne. Osobné veci, ako napr. bižutéria, hodinky, prstene alebo iné veci, nemožno nosiť alebo prinášať na miesta, na ktorých sa manipuluje s potravinami, ak tieto predmety predstavujú hrozbu pre bezpečnosť a údržnosť potravín. Návštevníci, resp. osoby vykonávajúce kontrolu, sú povinné, ak je to vhodné, nosiť ochranný odev a dodržiavať ustanovenia o osobnej hygiene (Todd, 2014). Podľa Eberta (2018) je dôležité, aby prevádzkovatelia potravinárskeho podniku zaviedli, implementovali a udržiavali kontroly založené na princípoch kritických kontrolných bodov v rámci analýzy rizík. Nedodržiavanie predpísaných teplôt, nedostatočná hygiena a manipulácia s potravinami môže mať za následok vznik alimentárnych ochorení.

Pravdepodobnosť, že pracovníci spôsobujú ochorenie zákazníkov a spolupracovníkov, závisí od viacerých faktorov: počet organizmov potrebných na vyvolanie infekcie, miesto kolonizácie a dĺžka ich prenosu u infikovaných osôb. Patogény nosa, hrdla, kože alebo fekálneho pôvodu sa s najväčšou pravdepodobnosťou prenášajú rukami (najmä prstami a dlaňami), pretože ruky sú časti tela, ktoré sa často dotýkajú úst, pokožky a análneho priestoru (Neil et al., 2018). Dezinfekcia rúk patrí k najjednoduchším, najefektívnejším a najlacnejším opatrením na zabránenie šírenia mnohých infekčných ochorení, najmä ochorení spôsobených nozokomiálnymi patogénmi (Klymenko a Kampf, 2015). Hygiena rúk je definovaná ako akt umývania rúk s mydlom a vodou alebo s dezinfekčným prípravkom na odstránenie patogénov (Neo et al., 2016).

V práci sme analyzovali vplyv jednotlivých nečistých úkonov na znečistenie rúk, ktoré následne manipulujú s potravinami.

Materiál a metódy

V piatich opakovaní našich pokusov ($n = 5$) sme odoberali ster z ruky (10 cm^2), ktoré sme úmyselne kontaminovali rôznymi nečistými úkonmi.



Obr. 1: Ster z kontaminovanej ruky

Na začiatku práce pred zámernou kontamináciou sme vykonali kontrolu (K) rúk. Medzi druhy znečistenia sme zaradili neumytie rúk po použití WC (A), kýchanie (B), dotyk kľúčiek (C), kontakt s odpadom (D). Cieľom bolo určiť celkový počet mikroorganizmov (CPM), počet koliformných baktérií (KB) a vláknitých mikroskopických húb (VMH). Všetky laboratórne analýzy sa vykonávali v priestoroch mikrobiologického laboratória na Katedre hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulty biotechnológie a potravinárstva.

➤ Stanovenie celkového počtu mikroorganizmov (STN ISO 4833, 2004)

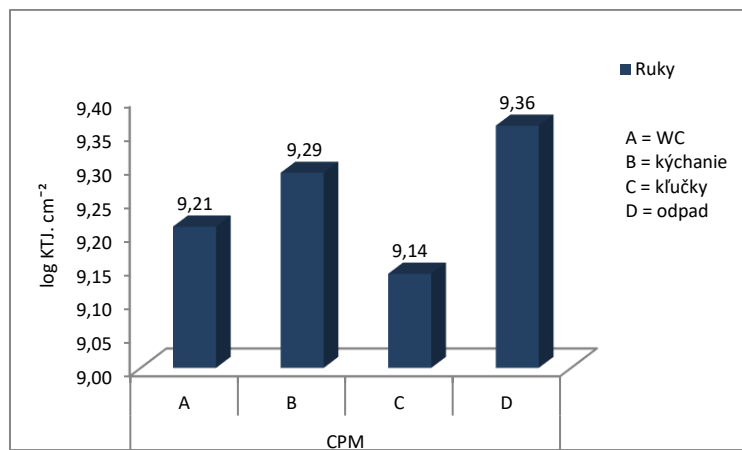
- PCA agar (Plate Count Agar)
- Kultivačná doba 72 hodín pri teplote $30 \text{ }^\circ\text{C}$,

- Kolónie v počte 15 – 300.
- **Stanovenie koliformných baktérií (STN EN ISO 4832, 2009)**
 - VČŽL agar (s kryštálovou violetou, neutrálnou červeňou, žlčovými soľami a laktózou),
 - Kultivačná doba 24 hodín pri teplote 30 °C,
 - Kolónie v počte 10 – 150.
- **Stanovenie počtu vláknitých mikroskopických húb (STN ISO 21527-1, 2010)**
 - DRBC agar (s dichlóranom, bengálskou červeňou a chloramfenikolom),
 - Kultivačná doba 5 – 7 dní pri teplote 25 °C,
 - Kolónie v počte 10 – 150.
- **Matematicko-štatistické spracovanie výsledkov**
 - Vypočítali sme základné matematicko-štatistické ukazovatele ako aritmetický priemer (\bar{x}), smerodajná odchýlka (s_x), minimálna hodnota (x_{\min}), maximálna hodnota (x_{\max}), medián a variačný koeficient (Vk %).
 - Vplyv kontaminácie rúk na výskyt jednotlivých mikroorganizmov sme hodnotili podľa F-testu, ktorý sme doplnili o Scheffeho test ($\alpha = 0,05$).

Výsledky práce a diskusia

Umývanie rúk je jednoduchý a efektívny, ale ľahko prehliadnutý spôsob, ako znížiť krížovú kontamináciu a prenos choroboplodných patogénov (Alli et al., 2014). Súhlasíme s Kamalom a Kumarom (2018), že na kontaminácii potravín sa podieľajú rôzne typy znečistenia. Faktory, ktoré môžu spôsobiť ochorenie jedlom, sú teploty pri skladovaní a varení, nedostatočné umývanie rúk a fekálno-orálny prenos. Mikroorganizmy sa môžu do potravín dostať od ľudí, ktorí si neumývajú pravidelne ruky.

V zmysle uvedeného sme po kontaminácii rúk 4 nečistými úkonmi sledovali prítomnosť CPM, koliformných baktérií a vláknitých mikroskopických húb (VMH). Hodnoty CPM na rukách boli najvyššie po kontakte s odpadom (graf 1). Na rukách CPM dosiahol hodnotu 9,36 log KTJ.cm⁻².

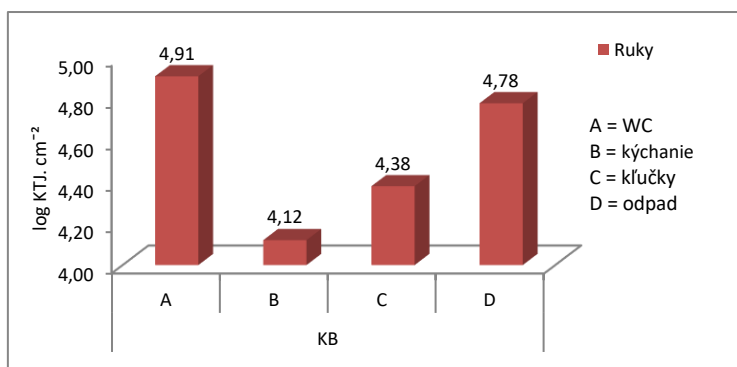


Graf 1: Prítomnosť CPM na rukách po ich kontaminácii

V rámci hlbšej analýzy dosiahnutých výsledkov sme zistili štatisticky preukazný rozdiel ($P < 0,05$) medzi kontrolou (K) a všetkými znečisteniami (A, B, C, D) rúk. V závislosti od druhu kontaminácie nebol zistený štatisticky preukazný rozdiel ($P > 0,05$) medzi A a B, C, D; medzi B a C, D; medzi C a D.

V závislosti od druhu kontaminácie bol štatistickým vyhodnotením zistený štatisticky preukazný rozdiel ($P < 0,05$) medzi kontrolou (K) a všetkými znečisteniami (A, B, C, D) rúk. Bol zistený štatisticky preukazný rozdiel ($P < 0,05$) medzi znečistením A a B. V závislosti od druhu kontaminácie nebol štatisticky preukazný rozdiel ($P > 0,05$) medzi A a C, D; medzi B a C, D; medzi C a D.

Zeleňáková et al. (2017) odoberali v školskom stravovacom zariadení stery z rúk a miest, ktoré potencionálne môžu vytvoriť kontamináciu. Zamerali sa na sledovanie mikrobiologických ukazovateľov ako sú *E. coli*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Klebsiela*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Bacillus* a *Staphylococcus*. Po zhodnotení výsledkov z mikrobiologickej analýzy odberu sterov zistili, že 9 vzoriek odobratých sterov nezodpovedalo požiadavkám na zdravotnú bezpečnosť pre prítomnosť patogénnych a podmienenčne patogénnych mikroorganizmov. V uvedených vzorkách boli identifikované baktérie *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.* Ostatné vzorky zodpovedali požiadavkám na zdravotnú bezpečnosť, prípadne boli prítomne len nepatogénne mikroorganizmy.



Graf 2: Prítomnosť KB na rukách po ich kontaminácii

Priemerná hodnota KB pred znečistením rúk bola $0,98 \pm 1,00$ log KTJ.cm⁻². Hodnoty KB sa po zámernom znečistení rúk štyrmi úkonmi pohybovali od $4,12 \pm 0,39$ log KTJ.cm⁻² (znečistenie rúk kýchaním) až do $4,91 \pm 0,29$ log KTJ.cm⁻² (znečistenie rúk po použití WC).

Vláknité mikroskopické huby boli posledným dôležitým mikroorganizmom, ktorý sme v rámci našich pokusov analyzovali. Komplexná charakteristika je uvedená v tab. 1. Najviac kolónií VMH sme zaznamenali na rukách po použití WC, nasledovala manipulácia s odpadom, dotyk s kľučkami a nakoniec kontaminácia rúk po kýchaní.

Tabuľka 1: Prítomnosť VMH na rukách po ich kontaminácii

Parameter	VMH [log KTJ.cm ⁻²]				
	Druh znečistenia				
	K	A	B	C	D
\bar{x}	0,57	2,81	2,38	2,41	2,52
S _x	0,71	0,14	0,14	0,09	0,11
X _{min}	0,00	2,62	2,57	2,61	2,64
X _{max}	1,00	2,97	2,91	2,83	2,95
medián	0,00	2,86	2,85	2,79	2,85
V _k [%]	2,13	5,12	5,32	3,37	4,08

K – kontrola rúk; A – WC; B – kýchanie; C – kľučky; D – odpad;

Umývanie rúk je základným preventívnym opatrením na ochranu proti šíreniu ochorenia a je jednou z primárnych postupov na zníženie prenosu baktérií, či už z človeka na človeka, alebo z človeka na povrchy prichádzajúce do styku s potravinami. Hlavným dôvodom obmedzenia kontaktu medzi potravinami určenými na priamu spotrebu a ľudskými rukami je zabrániť prenosu vírusov a baktérií, ktoré sa už nachádzajú

v ľudských organizmoch. Ďalej sa zistilo, že neumytím rúk po použití WC, sa rukami pracovníka môžu prenášať najmä fekálne patogény (Lambrechts et al., 2014). Z výsledkov vyplýva, že akýkoľvek druh znečistenia, ktorému sme sa venovali v našej práci, vplýva na znečistenie rúk zamestnancov a na potraviny, s ktorou manipulujú.

Záver

Problematika hygieny zamestnancov pri práci s potravinami je dôležitou súčasťou pre výrobu mikrobiologicky bezpečných potravín. Neustále vykonávajúce kontroly v prevádzkach, ktoré sa týkajú dodržiavania osobnej hygieny zamestnancov, dávajú akýsi varovný prst zamestnancom, že by sa mali v tejto oblasti zlepšiť. Zvyčajne sa pracovníci po prvej kontrole striktnie držia a dávajú si pozor po nasledujúcu kontrolu. Avšak po čase, ak nepríde hrubší trest alebo pokuta, nemôžeme očakávať zlepšenie.

Literatúra

- Alli, M.M., Verrill, L., Zhang, Y. 2014. Self-Reported Hand Washing Behaviors and Foodborne Illness: A Propensity Score Matching Approach. In *Journal of food protection*. [online]. vol. 77. no. 3. pp. 352 – 358. [cit. 2018-03-06]. Dostupné na internete: <<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-286>>.
- Ebert, M. 2018. Chapter 11 – Hygiene principles to avoid contamination/cross-contamination in the kitchen and during food processing. In *Staphylococcus aureus*. [online]. 217 – 234 s. [cit. 2018-02-07]. Dostupné na internete: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809671-0.00011-5>>.
- Kamala, K., Kumar, V. 2018. Food products and food contamination. In *Microbial contamination and food degradation*. [online]. pp. 1 – 19. [cit. 2018-03-14]. Dostupné na internete: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811515-2.00001-9>>.
- Klymenko, I., Kampf, G. 2015. Systematic mistakes in hand hygiene practice in Ukraine: detection, consequences and ways of elimination. In *GMS Hygiene and infection control*. [online]. [cit. 2018-02-26]. Dostupné na internete: <10.3205/dgkh000244>.
- Lambrechts, A., Human, I., Doughari, J., Lues, J. 2014. Bacterial contamination of the hands of food handlers as indicator of hand washing efficacy in some convenient food industries in South Africa. In *Pakistan journal of medical sciences*. [online]. vol. 30. no. 4. pp. 755 – 758. [cit. 2018-03-19]. Dostupné na internete: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4121692/#B3>>.
- Neo, J.R.J., March, R., Vielemeyer, O., Franklin, E. 2016. Evidence-based practises to increase hand hygiene compliance in health care facilities: An integrated review. In *American journal of infection control*. [online]. vol. 44. no. 6. pp. 691 – 704. [cit. 2018-03-12]. Dostupné na internete: <<https://doi.org/10.1016/j.ajic.2015.11.034>>.
- Neil, K.P., Yoder, J.S., Hall, A.J., Bowen, A. 2018. Enteric diseases transmitted through food, water and yoonotic exposures. In *Principles and practice of pediatric infectious diseases*. [online]. pp. 397 – 409. [cit. 2018-02-22]. Dostupné na internete: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-40181-4.00059-1>>.
- Tood, E.C.D. 2014. Personal hygiene and health. In *Food safety management*. [online]. vol. 44. no. 6. pp. 769 – 798. [cit. 2018-03-12]. Dostupné na internete: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381504-0.00028-7>>.
- Zajác, P., Čapla, J., Golian, J., Zelenáková, L., Vietoris, V. et al. 2009. *Príručka správnej výrobnnej praxe pre zariadenia spoločného stravovania*. 1 vyd. Nitra : SPU, Združenie HACCP Consulting. 220 s. ISBN 978-80-970214-8-1.

Zeleňáková, L., Kunová, S., Lopašovský, Ľ. 2017. Hygiena v zariadeniach školského stravovania a jej vplyv na mikrobiologickú kvalitu pokrmov. In *Hygiena a technologie potravín XLVII Lenfeldovy a Höklovy dny*. Brno, s. 248 – 249. ISBN 978-80-7305-793-0.

PodĎakovanie

Práca bola uskutočnená aj vďaka finančnej podpore projektu KEGA č. 007SPU-4/2017.

Kontaktná adresa

doc. Ing. Lucia Zeleňáková, PhD., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: Lucia.Zelenakova@uniag.sk

doc. Ing. Simona Kunová, PhD., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: Simona.Kunova@uniag.sk

MVDr. Ľubomír Lopašovský, PhD., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: Lubomir.Lopasovsky@uniag.sk

Etiológia mastitíd v produkčných chovoch dojníc a oviec situovaných v marginálnych oblastiach Slovenska

Etiology of mastitis in herds of dairy cows and sheep situated in marginal parts of Slovakia

Zigo, F.¹, Takáč, L.¹, Vasil', M.¹, Zigová, M.², Elečko, J.¹.

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice

²Lekárska fakulta Univerzity Pavla Jozefa Šafárika, Košice

Súhrn

Marginálne regióny predstavujú pomerne rozsiahlu časť územia Slovenskej republiky. Z hľadiska ekonomiky chovu prežúvavcov ide o regióny, kde pri optimálnom využití všetkých výrobných faktorov je možné efektívne produkovať živočíšne komodity len ojedinele. Cieľom štúdie bolo stanoviť prevalenciu a podiel jednotlivých etiologických činiteľov zapríčiňujúcich mastitídy prežúvavcov v dvoch produkčných chovoch dojníc a v dvoch chovoch oviec lokalizovaných v marginálnych oblastiach Slovenska. Komplexné posúdenie zdravotného stavu bolo vykonané na základe klinického vyšetrenia vemena, makroskopického hodnotenia mlieka s vyhodnotením NK testu a bakteriologickej analýzy individuálnych vzoriek surového mlieka od každej dojnice a bahnice. Prevalencia intramamárnych infekcií (IMI) v sledovaných chovoch dojníc bola 10,5 % až 14,1 %. V produkčných chovoch bahníc bola prevalencia mastitíd 8,5 % až 16,7 %. Vo všetkých vyšetrovaných chovoch dojníc a oviec boli potvrdené prevažne subklinické formy mastitíd. Najvyššie zastúpenie z izolovaných bakteriálnych patogénov IMI predstavovali koaguláza negatívne stafylokoky (CNS), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* a *Enterococcus* spp.

Abstract

Relatively large part of the Slovakia area are marginal regions, which in terms in two dairy herds of cows and ewes situated in marginal parts of Slovakia. Complex examination of health status was evaluated on the basis of clinical examination of the udder, macroscopic evaluation of milk, with the evaluation of California mastitis test (CMT) and bacteriological analysis of individual raw milk samples. The prevalence of intramammary infection (IMI) in the monitored herds of cows was 10,5% to 14,1%, respectively. In dairy herds of ewes was prevalence of mastitis 8,5% to 16,7%, respectively. In all monitored cows and sheep herds were confirmed predominantly subclinical forms of IMI. The highest percentage of etiological agents had coagulase negative staphylococci (CNS), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* and *Enterococcus* spp.

Kľúčové slová: *marginálne oblasti, Slovensko, dojnice, ovce, mastitídy*

Úvod

Na základe geografických a ekologických podmienok tzv. „marginálne regióny“, tvoria rozsiahlu časť územia Slovenskej republiky. Tieto okrajové regióny sú znevýhodnené oproti ostatným častiam Slovenska najmä v geografických, ekonomických a sociálnych ukazovateľoch. Ekonomická stabilita týchto regiónov je výrazne ovplyvnená existenciou poľnohospodárstva a predovšetkým živočíšnej produkcie, z čoho chov oviec a dojníc predstavuje až 75 % živočíšnej produkcie týchto oblastí. Produkty z chovu

oviec a dojníc majú nezastupiteľné miesto najmä v oblasti racionálnej výživy konzumentov, keďže viaceré z mliečnych špecialít môžeme zaradiť medzi tzv. funkčné potraviny (Tančin a kol., 2016).

Dodržať dobrý zdravotný stav mliečnej žľazy je každodennou výzvou pre všetkých zainteresovaných v prvovýrobe mlieka. V produkčných chovoch dojníc a oviec nedodržiavanie hygienických opatrení a dietetických potrieb v jednotlivých laktačných fázach vedie ku zvýšenej incidencii mastitíd, k poklesu dojivosti a zhoršeniu kvality mlieka, resp. k celkovým ekonomickým stratám.

Cieľom štúdie bolo stanoviť prevalenciu a podiel jednotlivých etiologických činiteľov zapríčiňujúcich mastitídy prežúvavcov z odobratých vzoriek surového mlieka v produkčných chovoch oviec a dojníc lokalizovaných v marginálnych oblastiach Slovenska.

Materiál a metodika

Chovy oviec a dojníc

Praktická časť štúdie sa uskutočnila v dvoch chovoch oviec a v dvoch chovoch dojníc so štandardnými zootechnickými a zoohygienickými podmienkami situovaných v okresoch Gelnica a Trebišov. Chovy oviec pozostávali z 240 ks a 112 ks oviec plemena zošľachtená valaška a lacaune, dojených 2x denne v strojovej dojárni počas mesiacov apríl – september. Chovy dojníc pozostávali z 230 ks a 300 ks plemena slovenský strakatý a holštajnský dobytok. V oboch chovoch sú dojnice ustajnené maštaliach s voľným prístupom k vyvýšeným boxom, ktoré sú nastielané slamou. Súčasťou technológie je nadväznosť na výbehy s dojením 2x denne v dvojradovej dojárni.

Vyšetrenie chovov

Komplexné vyšetrenie bahníc a dojníc pozostávalo z klinického vyšetrenia vemena doplnené o NK test (Fthenakis, 1994) a bakteriologické vyšetrenie odobratých individuálnych vzoriek mlieka podľa Malinowski a kol. (2006). Vyšetrenie v stádach oviec bolo realizované na začiatku sezóny dojenia (apríl). Komplexné vyšetrenie v stáde kráv bolo realizované na začiatku laktácie, u každej dojnice na základe poskytnutých záznamov z reprodukčného cyklu (telenia). Vyhodnotením klinického vyšetrenia, skóre NK testu a bakteriologického vyšetrenia odobratých individuálnych vzoriek mlieka boli stanovené jednotlivé formy (latentné, subklinické a klinické) mastitíd u produkčných dojníc a bahníc podľa Malinowski a kol. (2006) a Fthenakis (1994).

Výsledky a diskusia

Infekcie mliečnej žľazy prežúvavcov sa celosvetovo podieľajú na ekonomických stratách až 30 % a náklady na liečbu klinických mastitíd sa odhadujú priemerne na cca 110 € (125 USD). V podmienkach Slovenska sú náklady na liečbu klinickej mastitídy vyššie, až 148 € (Dukeš, 2011). V sledovaných chovoch dojníc bol výskyt IMI na úrovni 10,5 % až 14,1 %. V chovoch oviec bola prevalencia mastitíd na začiatku sezóny dojenia na úrovni 8,5 % až 16,7 % (Tab. 1).

Mnohé práce uvádzajú, že spomedzi najčastejších patogénov sú *S. uberis* a *S. aureus* plošne známych ako hlavná príčina mastitíd v produkčných stádach dojníc a oviec (Vautor a kol., 2009; Zadoks a kol., 2011). V našej štúdii boli streptokoky a stafylokoky izolované z klinických ako aj subklinických (SKM) prípadov (Tab. 1 a 2).

Tabuľka 1: Vyšetrenie produkčných chovov dojníc a oviec

Vyšetrené stáda	dojnice		bahnice	
	A	B	A	B
	%	%	%	%
zdravé štvrte resp. polky	82,7	87,9	90,0	76,6
pozitívne štvrte resp. polky ¹	17,3	12,1	10,0	23,4
infikované štvrte resp. polky ²	14,6	10,5	8,5	16,7
všetky vyšetované štvrte resp. polky (ks)	1193	914	477	222
počet zvierat v stáde (ks)	300	230	240	112

Legenda: ¹vyhodnotenie NK testu s výsledným skóre 1,2,3 a 4; ²vyhodnotenie na základe NK testu a pozitívnej bakteriologickej kultivácie vzoriek mlieka.

Tabuľka 2: Izolovaní bakteriálni pôvodcovia mastitíd z individuálnych (štvrt'ových) vzoriek surového kravského mlieka

Pôvodcovia mastitíd	nD	latentné formy		subklinické formy		klinické formy	
		A	B	A	B	A	B
		%	%	%	%	%	%
<i>Str. uberis</i>	17	1,7	-	6,9	-	1,1	-
<i>Streptococcus spp.</i>	34	1,1	2,1	9,1	12,4	0,6	1,0
CNS ¹	103	18,0	9,3	20,1	24,7	-	-
CPS ²	32	1,7	1,0	10,3	6,2	1,7	2,1
<i>E. coli</i>	28	2,3	3,1	8,0	6,2	0,6	-
<i>Enterococcus spp.</i>	36	4,1	3,1	8,6	11,3	-	-
<i>Bacillus spp.</i>	12	-	2,1	2,3	8,2	-	-
<i>Proteus spp.</i>	9	-	1,0	1,7	5,2	-	-
Spolu	271	29,0	21,6	67,1	75,3	4,0	3,1

Legenda: nD – počet pozitívnych vzoriek izolovaných z dojnic; CNS¹ – koaguláza negatívne stafylokoky; CPS² - koaguláza pozitívne stafylokoky.

Tabuľka 3: Izolovaní bakteriálni pôvodcovia mastitíd z individuálnych (polkových) vzoriek surového mlieka bahnic

Pôvodcovia mastitíd	nO	latentné formy		subklinické formy		klinické formy	
		A	B	A	B	A	B
		%	%	%	%	%	%
<i>Str. uberis</i>	8	-	-	14,6	2,7	2,4	-
<i>Streptococcus spp.</i>	12	-	-	7,2	12,5	2,4	7,2
CNS ¹	16	14,6	5,4	12,3	9,8	-	-
CPS ²	14	2,7	-	17,1	8,1	-	8,1
<i>E. coli</i>	9	4,8	2,7	8,1	8,1	-	-
<i>Enterococcus spp.</i>	7	-	8,1	-	9,8	-	-
<i>Bacillus spp.</i>	6	-	5,4	-	10,8	-	-
<i>Proteus spp.</i>	6	4,8	-	-	10,8	-	-
Spolu	78	34,4	24,3	59,3	68,2	4,8	16,2

Legenda: nO - počet pozitívnych vzoriek izolovaných z bahnic; CNS¹ – koaguláza negatívne stafylokoky; CPS² - koaguláza pozitívne stafylokoky.

Zvýšený podiel *S. uberis* ale aj niektorých druhov CNS na prevalencii mastitíd uvádzajú autori v USA ako aj v Českej republike. V našej štúdií mali najvyššie zastúpenie spomedzi bakteriálnych patogénov CNS, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*

a *Enterococcus* spp. a *E. coli*, ktoré boli izolované z individuálnych vzoriek mlieka v chovoch dojníc a oviec (Tab. 1 a 2).

Thorberg a kol. (2006) vo svojej štúdií dospeli k záveru, že CNS môžu byť rovnako nebezpečné pre zvieratá ako koaguláza pozitívne stafylokoky (*S. aureus* a *S. hyicus*). Subklinické mastitídy (SKM) sú z celosvetového hľadiska prevládajúcou formou mastitíd u kráv, oviec a kôz. Negatívny vplyv CNS na produkciu mlieka je relatívne malý oproti SKM spôsobeným *Escherichia coli* a *Streptococcus* spp. S najväčšou pravdepodobnosťou je to kvôli kompenzačnému efektu neinfikovaných žliaz na úrovni celého vemena. Avšak negatívny vplyv SKM na kvalitu mlieka použitého na výrobu syrov je významný.

Záver

Polyetiologický a multifaktorový charakter zápalov mliečnej žľazy prežúvavcov spôsobuje, že účinnosť všeobecne uplatňovaných protimastitídnych metód pri redukcii mastitíd environmentálnymi baktériami v kombinácii s hlavnými patogénmi mliečnej žľazy býva obmedzená. Aj v marginálnych podmienkach treba stále hľadať, čo najefektívnejšie systémy chovu, s vhodnými plemenami a úžitkovými typmi s využitím racionálnych technologických systémov a modernej techniky chovu. Vzhľadom na množstvo uvádzaných faktorov bude ekonomická prosperita chovu závisieť hlavne od odbornosti a schopnosti manažérov podniku resp. vlastníkov stáda kráv, oviec a kôz veľmi rýchlo zavádzať moderné technologické systémy do vlastnej poľnohospodárskej výroby.

Literatúra

- Dukes, M.: Jedna klinická mastitída stojí chovateľa 148 €. Slovenský Chov. 2011, Dostupné na: <http://www.agrobiznis.sk/462-jedna-kli-nicka-mastitida-stoji-chovatea-148->
- Malinowski, E., Lassa, H., Kłossowska, A. et al.: Etiological agents of dairy cows' mastitis in western part of Poland. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2006, vol. 9, p. 191-194.
- Tančín, V., Bauer, M., Holko, I., Baranovič, Š.: Etiology of mastitis in ewes and possible genetic and epigenetic factors involved. *Slovak J. Anim. Sci.*, 2016, 49, (2), 85-93.
- Thorberg, B.M., Kühn, I., Aarestrup, F.M. et al.: Pheno- and genotyping of *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk and human skin. *Vet Microbiol.*, 2006, 115, 163-72.
- Vautor, E., Cocckfield, J., Marechal, C. et al.: Difference in virulence between *Staphylococcus aureus* isolates causing gangrenous mastitis versus subclinical mastitis in a dairy sheep flock. *Vet. Res.*, 2009, 6, 40-56.
- Zadoks, R.N., Middleton, J.R., Mc Dougall, S. et al.: Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 2011, 16, 4, 357-72.

Pod'akovanie

Práca bola podporená projektom VEGA-1/0510/16.

Kontaktná adresa

MVDr. František Zigo, PhD.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Ústav chovu zvierat

Komenského 73, 041 80, Košice,

e-mail: frantisek.zigo@uvlf.sk

HISTORICKÁ SEKCE

Prof. MVDr. Zdeněk Matyáš, CSc. - 95. výročí narození *Zdeněk Matyáš, DVM, PhD, Prof. - 95th anniversary*

Ostrý, V., Ruprich, J.

Státní zdravotní ústav v Praze, Centrum zdraví, výživy a potravin v Brně

Souhrn

V letošním roce, 14. prosince 2018, vzpomeneme 95. výročí narození prof. MVDr. Zdeňka Matyáše, CSc. (*1923 – †2002) přední osobnosti československé a světové veterinární hygieny a veřejného zdraví. Jeho celoživotní působení bylo úzce spjato s vývojem oboru veterinární hygiena potravin, nejen u nás, ale i ve světě. Jako odchovanec Ústavu hygieny a technologie potravin na Vysoké škole veterinární v Brně, později vedoucí tohoto ústavu a vedoucí oddělení Hygieny a technologie potravin Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně, dosáhl významného postavení v organizaci a řízení tohoto oboru ve světovém měřítku. V letech 1966 – 1971 působil ve funkci vedoucího Veterinárně-zdravotního oddělení Světové zdravotní organizace (WHO) při Organizaci spojených národů se sídlem v Ženevě. V letech 1977 – 1983 působil ve WHO v Ženevě jako vedoucí jednotky „Veterinárního veřejného zdraví“ v divizi „Infekčních onemocnění“. Po návratu z WHO se stal vedoucím katedry hygieny a technologie potravin na VŠV v Brně. V roce 1985 se podílel na založení Centra hygieny potravinových řetězců v Brně, Institutu hygieny a epidemiologie v Praze (dnes Centra zdraví, výživy a potravin v Brně, Státního zdravotního ústavu v Praze).

Klíčová slova: *prof. Zdeněk Matyáš, 95. výročí narození, hygiena potravin, veřejné zdraví, HACCP*

Úvod

Letošní konference XLVIII. Lenfeldovy a Höklovy dny je spojena s 95. výročím narození Prof. MVDr. Zdeňka Matyáše, CSc., profesora v oboru hygieny potravin živočišného původu na Vysoké škole veterinární v Brně.



Prof. MVDr. Zdeněk Matyáš, CSc.
(*1923 – †2002)

Prof. Matyáš se narodil Vojtěšce Matyášové rozené Hulákové (*1894 – †1975) a Viktorovi Matyášovi (*1891 – †1974) dne 14. prosince 1923 v Brně - Řečkovících. Maminka Vojtěška Matyášová byla dlouholetou učitelkou obecné školy v Řečkovících, kulturní a sociální pracovnící a kronikářkou obce Brno-Řečkovice. Od roku 1991 na její

počet bylo pojmenováno v Brně - Řečkovicích Náměstí Vojtěšky Matyášové. Tatínek Viktor Matyáš byl železniční inženýr. Prof. Matyáš měl dva sourozence Milíče Matyáše (*1922 – †1973) a Alenu Matyášovou (*1920 – †2002). Rodina společně bydlela v Brně - Řečkovicích na ulici Železničářské. V roce 1951 se prof. Matyáš oženil se Zdeňkou Katolickou (*1929 – †1995) a měli spolu dceru Ivu. Dcera MUDr. Iva Čapová pracuje jako vedoucí lékařka na Klinice dětských infekčních nemocí v dětské nemocnici v Brně a je manželkou prof. MUDr. Ivana Čapova, DrSc. přednosty I. chirurgické kliniky LF MU a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně.

Prof. Matyáš po absolvování reálného gymnázia v Brně - Králově Poli studoval v letech 1945 – 1949 Vysokou školu veterinární v Brně (VŠV). V roce 1950 obdržel titul MVDr a na VŠV zůstal jako odborný asistent. Vybral si specializaci hygiena a technologie potravin na Ústavu hygieny a technologie potravin pod vedením doc. Hökla. S uvedenou specializací měl praktické zkušenosti, protože na Ústavu hygieny a technologie potravin pracoval jako student -volontér. Po smrti doc. Hökla převzal vedení ústavu prof. Miroslav Dobeš (Matyáš, 1968), kterého prof. Matyáš ve vedení ústavu několikrát vystřídal.

Prof. Matyáš v roce 1966 získal vědeckou hodnost kandidáta věd a v roce 1977 získal titul řádného profesora v oboru hygiena a technologie potravin.

Prof. Matyáš se v roce 1974 podílel na založení oddělení Hygieny a technologie potravin na Výzkumném ústavu veterinárního lékařství v Brně, kde se stal vedoucím oddělení. V roce 1975 stál při zakládání samostatného studijního oboru hygiena potravin na Vysoké škole veterinární. Specializovaná výuka hygieny potravin vyplynula z potřeb praxe, která vyžadovala stále vyšší úroveň vzdělání vedoucích pracovníků a vyšších nároků na hygienickou a zdravotní nezávadnost potravin.

V letech 1966 – 1971 působil ve funkci vedoucího Veterinárně-zdravotního oddělení Světové zdravotní organizace (WHO) při Organizaci spojených národů se sídlem v Ženevě. V letech 1977 – 1983 působil ve WHO v Ženevě jako vedoucí jednotky „Veterinárního veřejného zdraví“ v divizi „Infekčních onemocnění“. Zde se podílel na řešení problematiky zejména v oblasti zoonóz, mikrobiálních specifikací v potravinách a systému HACCP. Úzce spolupracoval s Mezinárodní komisí pro mikrobiologické specifikace v potravinách (ICMSF), s Organizací pro výživu a zemědělství (FAO) v Římě, se Světovou organizací pro zdraví zvířat (OIE) v Paříži a se Světovou asociací veterinárních hygieniků potravin.

Prof. Matyáš se po návratu z WHO v roce 1983 stal vedoucím katedry hygieny a technologie potravin na VŠV v Brně. V roce 1985 se podílel na založení Centra hygieny potravinových řetězců v Brně (CHPŘ), Institutu hygieny a epidemiologie v Praze (dnes Centra zdraví, výživy a potravin v Brně, Státního zdravotního ústavu v Praze). Stal se také jeho prvním vedoucím CHPŘ až do roku 1991, kdy odešel do důchodu. Prof. Matyáš tak naplnil ideu MVDr. Františka Pfaffa „*una sanitas – una medicina*“ - ideu prohloubení a zdokonalování spolupráce, koordinace a kooperace mezi veterinárními lékaři – hygieniky potravin a lékaři – hygieniky výživy v Československu. Prvními zaměstnanci CHPŘ byli prof. MVDr. Jiří Ruprich, CSc., doc. MVDr. Vladimír Ostrý, CSc., Prof. MVDr. Iva Tomancová – Steinhäuserová, CSc.

a MVDr. Alena Hovorková. Po zřízení CHPŘ pracovali jeho pracovníci především v prostorách Katedry hygieny a technologie potravin VŠV v Brně a v toxikologickém ústavu VŠV v Brně. Základní kámen nové budovy CHPŘ byl položen 26. 4. 1987 a stavba byla dokončena a otevřena v září roku 1989.



Prof. Matyáš při slavnostním projevu k otevření nové budovy CHPŘ v Brně v září 1989

Prof. Matyáš vydal řadu odborných a vědeckých článků, odborných knižních publikací a VŠ skript jako hlavní autor:

a. v oblasti hygieny a technologie potravin

- *Vybrané kapitoly z hygieny a technologie masa jatečných zvířat a drůbeže*, knižní publikace, 1954.
- *Technologie potravin a surovin živočišného původu*: Určeno pro posluchače fakulty veterinární v Brně a v Košicích, knižní publikace, 11. vydání v letech 1956 - 1973.
- *Veterinární prohlídka jatečných zvířat, masa a zvěřiny*, 1967.
- *Hygienu potravin a surovin živočišného původu*: Určeno pro posluchače fakulty veterinární v Brně, knižní publikace, 3. vydání v letech 1969 - 1974.
- *Hygienu a technologie mrazírenských a rybích výrobků*: Určeno pro posluchače Vysoké školy veterinární v Brně, knižní publikace, 1990.
- *Hygienu výroby a distribuce potravin*, knižní publikace, 1999.

b. v oblasti HACCP

- *Analýza nebezpečí a kritické kontrolní ochranné body HACCP*, knižní publikace, 1993, Státní zdravotní ústav, Centrum hygieny potravinových řetězců, 85 s.

- *Podklady pro zavedení HACCP do oboru zpracování surovin a potravin živočišného původu: ryby, měkkýši, korýši, zvěřina, drůbež, vejce, med, lahůdky*, knižní publikace, 2002.
- *Podklady pro zavedení HACCP do oboru zpracování masa a výroby masných výrobků*, I. vyd., Vydavatelství a nakladatelství AGRAL, s.r.o., Praha 1996, 115 s.
- *Podklady pro zavedení HACCP do oboru zpracování mléka a výroby mléčných výrobků*, 1. vyd., vydala SVS ČR, Praha 1996, 127 s.
- *Podklady pro zavedení HACCP do oboru zpracování surovin a potravin živočišného původu*, 1. vyd., Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2002, 141 s.

c. v oblasti obecné hygieny a racionální výživy

- *Obecná hygiena a racionální výživa*, skripta, I. a II. díl, VŠV, Brno, 1989.

Prof. Matyáš se tak stal přední osobností československé a světové veterinární hygieny a veřejného zdraví. Na počest prof. Matyáše je udělována při slavnostních příležitostech významným osobnostem v oboru Hygiena a technologie potravin pamětní plaketa prof. Matyáše. Čest jeho památce!

Literatura

MATYÁŠ, Z. Hygiena a technologie potravin. In: Novotný E., Böhm R. a kol.: 50 let vysokého veterinárního učení v Brně, Veterinární fakulta VŠZ, Brno 1968, 423 s.

Pozn: Další použitá literatura je k dispozici u autora

Poděkování

Podpořeno MZ ČR – RVO („Státní zdravotní ústav – SZÚ, IČ 75010330)

Kontaktní adresa

Doc. MVDr. Vladimír Ostrý, CSc.

Státní zdravotní ústav v Praze, Centrum zdraví, výživy a potravin

Oddělení hodnocení zdravotních rizik a aplikované výživy

NRC pro mikroskopické houby a jejich toxiny v potravinových řetězcích

Palackého 3a, Brno, 612 42

e-mail: ostry@chpr.szu.cz

**Eradikácia bovinnej brucelózy (*Brucella abortus*) v bývalom
Československu (teraz Česká republika a Slovenská republika)
*Eradication of bovine brucellosis (*Brucella abortus*) in the former
Czechoslovakia (Now the Czech Republic and the Slovak Republic)***

Šimko, Š., Buš, A., Šimko, J.

Nová 2889/11, 962 21 Lieskovec, Slovenská republika

Mečířova 47, 612 00 Brno, Česká republika

Regionálna veterinárna a potravinová správa Zvolen, Nám. SNP 50, 960 01 Zvolen,
Slovenská republika

Súhrn

Brucelóza je zoonóza, ktorá sa spravidla prenáša ľuďmi kontaktom s infikovanými zvieratami a konzumovaním kontaminovaných animálnych produktov. Bovinná brucelóza je jedna z najvýznamnejších zoonóz sveta. V roku 1964 sa v Československu úspešne dokončil program ozdravenia chovov od bovinnej brucelózy vyvolanej zárodkami *Brucella abortus*. Prieskum celej populácie hovädzieho dobytku začal v roku 1959 aglutinačnými testami. Najvyššie hodnoty prevalence brucelózy dobytku boli zaznamenané k 1.1.1961 – 10 233 kusov (4,42 % zo stavu dobytku). Nulové hodnoty sa dosiahli k 1.1.1965. Ozdravovací proces bol zo začiatku postavený na eliminačnej metóde – postupným vyradovaním brucelózných kusov. Postihnuté boli predovšetkým veľkochovy. V ďalších fázach sa uplatnila radikálna metóda, pri ktorej sa vyradili a nahradili celé brucelózne chovy. Počas ozdravovacieho programu sa vyradilo viac ako 410 tisíc infikovaných zvierat. Systematicky sa kontrolovali všetky infikované chovy vrátane nových ohnísk. Eradikácia brucelózy dobytku pomohla predchádzaniu výskytu nových prípadov brucelózy u ľudí. Prísne požiadavky na import dobytku, nárast sebestačnosti produkcie mlieka a mäsa pomáhali chrániť krajinu pred re-infekciami. Centralizovaná štátna veterinárna správa so svojim personálnym obsadím a materiálnym vybavením bola základom tohto komplexného a náročného programu.

Abstract

Brucellosis is a zoonosis usually transmitted to humans by contact with infected animals and consumption of contaminated animal products. Bovine brucellosis is one of the important zoonotic diseases worldwide. In the Czechoslovak republic, the program of recovery of livestock from brucellosis caused by microorganisms *Brucella abortus* was successfully completed in 1964. By edict of the government of former Czechoslovakia the eradication started in 1959 by the exploration of the complete cattle population by agglutination tests. The highest values of the prevalence of cattle suffering from brucellosis were recorded on January 1, 1961 – 106.233 heads of cattle (2.44 % of the total number of cattle). Zero values were obtained by the 1st January 1965. The process of eradications was first based on the elimination of infected animals. In the later phase the more radical method was employed – the whole herds with infected individuals were eliminated and replaced. During the recovery program more than 410 thousands of infected animals were eliminated. Systematic investigations detected all affected herds, including new outbreak. Brucellosis eradication in cattle helps to prevent the occurrence of new cases in human population. Strict measures for very limited imports of cattle, due to increasing self-sufficiency in meat and milk production, help to protect the country

from re-infection. A centralised State Veterinary Service, strong in manpower, material, facilities and budget proved to be the backbone of this extremely complex and demanding programme.

Kľúčové slová: *Brucella abortus*, boviná brucelóza, eradikácia brucelózy

Úvod

Už začiatkom decembra 1964 bol úspešne dokončený štátny program eradikácie brucelózy dobytka (*Brucella abortus*) na území bývalej Československej socialistickej republiky (ďalej Československo). K tomuto dátumu boli na celom území Československa ozdravené chovy hovädzieho dobytka od tejto nákazy. Súčasne s tlmením bovinnej brucelózy (i iných druhov zvierat, a to najmä ošípaných a zajacov) prebiehal aj štátny program tlmenia bovinnej tuberkulózy. Československo sa zaradilo medzi prvé štáty na svete, v ktorých bola choroba zlikvidovaná. Kontrola nakažlivých ochorení patrila k prioritám štátnej politiky. Výsledky tejto práce trvajú dodnes. Práca má za cieľ sprítomniť minulosť a vytvoriť odkaz pre súčasnosť, pretože *Brucellosis semper viva*.

Materiál a metodika

Príspevok sa opiera o údaje Štátnej veterinárnej správy Ministerstva poľnohospodárstva, o údaje Ministerstva zdravotníctva, archívne materiály bývalého Krajského veterinárneho zariadenia v Banskej Bystrici, právne veterinárne predpisy (zákon o veterinárnej starostlivosti (č. 66/1961 Zb., vládne nariadenia, vyhlášky, smernice, laboratórne metodiky), štatistické a niektoré literárne údaje (Hajdu, 1961; Andrlé, 1962; Dražan, 1962; Kouba, 1962, 1965, 1968, 1969, 2000, 2003; Nižňanský a Moravcová-Jelínková, 1952; Nižňanský a kol., 1967; Bischof, 1985).

Výsledky a diskusia

V práci nie je možné ani účelne zaujať stanovisko k všetkým problémom vtedajšej brucelózy. Vládne nariadenie č. 781 zo 16. 9. 1959 prijalo opatrenia k likvidácii brucelózy (i tuberkulózy) dobytka. Celoštátny plán likvidácie brucelózy hovädzieho dobytka (ďalej h. d.) bol formulovaný tak, aby do konca roku 1965 bolo bez brucelózy celé územie štátu.

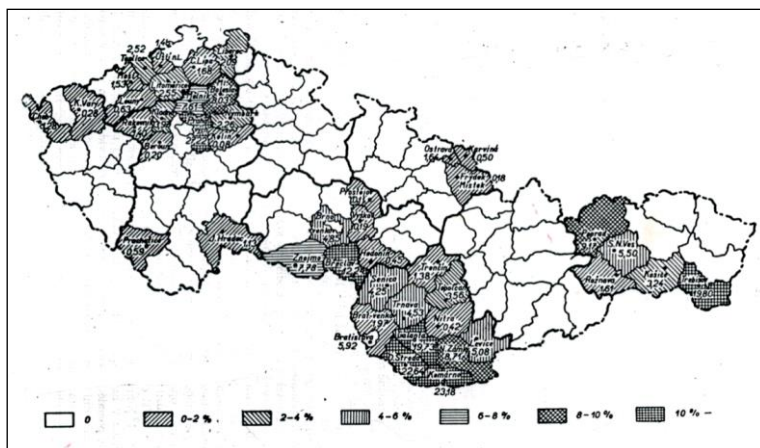
Československo v rokoch 1960–1990 malo rozlohu 129 900 km², 14 344 928 obyvateľov (k 1.1.1970); rokoch 1961–1965 11 správnych oblastí (krajov) a 109 okresov. Stav hospodárskych zvierat (vrátane h. d.) za obdobie rokov 1936 – 1985 sú známe so štatistických ročeniek (1986). Napr. na území republiky bolo v roku 1960 – 4 387 tisíc kusov h. d., z toho 2 047 tisíc kráv; v roku 1965 – 4 389 tisíc kusov h. d., z toho 2 047 tisíc kráv. Tieto štatistické údaje dokumentujú, že eradikácia prebiehala pri udržaní početných stavov h. d. ako to predpokladal štátny eradikačný program.

Prevalencia brucelózy h. d. v Československu v rokoch 1953 – 1966 je v tab. 1, chorobnosť na brucelózu podľa územného členenia na obr. 1 a eliminácia dobytka s infekciou *B. abortus* v Československu (1960-1964) v tab. č. 2.

Tabuľka 1: Prevalencia brucelózy u hovädzieho dobytku v ČSR (1953 – 1966)

Dátum	ČSSR*		České kraje		Slovensko	
	počet chorých	% zo stavu hovädzieho dobytku	Počet chorých	% zo stavu hovädzieho dobytku	Počet chorých	% zo stavu hovädzieho dobytku
1. 1. 1953	25 513	0,57	•	•	•	•
1. 1. 1954	31 468	0,77	19 523	0,62	11 945	0,96
1. 6. 1955	46 592	1,12	•	•	•	•
1. 4. 1956	97 697	2,37	26 186	0,92	71 511	5,72
1. 7. 1959	92 892	2,22	•	•	•	•
1. 1. 1960	98 596	2,29	20 481	0,68	78 115	5,93
1. 7. 1960	92 538	2,11	26 199	0,87	66 339	4,83
1. 1. 1961	106 233	2,42	33 211	1,09	73 022	5,37
1. 7. 1961	105 150	2,34	37 763	1,22	67 387	4,77
1. 1. 1962	88 421	1,96	36 656	1,07	54 765	3,95
1. 7. 1962	81 266	1,75	30 270	0,95	51 026	3,48
1. 1. 1963	68 960	1,53	25 288	0,79	43 672	3,15
1. 7. 1963	48 512	1,07	15 404	0,49	33 108	2,30
1. 1. 1964	28 287	0,63	7 998	0,26	20 289	1,48
1. 1. 1964	13 464	0,30	2 527	0,08	10 937	0,77
1. 1. 1965	•	•	•	•	•	•
1. 1. 1965	•	•	•	•	•	•
1. 6. 1965	•	•	•	•	•	•
1.1. 1966	•	•	•	•	•	•

*ČSSR – Československá socialistická republika (Československo)



Obrázok 1: Chorobnosť na brucelózu v Československu v 1. 1. 1961

Tabuľka 2: Eliminácia dobytku s infekciou *B. abortus* v Československu (1960-1964)

Rok	Počet na začiatku roka	Počet nových prípadov	Počet eliminovaných	Počet na konci roka
1960	98 596	9 823	2 186	106 233
1961	106 233	4 279	22 091	88 421
1962	88 421	1 188	20 649	68 960
1963	68 960	1 511	42 184	28 287
1964	28 286	2 631	39 918	0
Celkom	390 496	19 432	127 028	0

Práca sa zaoberá opatreniami pri tlmení bovinnej brucelózy (*Brucella abortus*) v bývalom Československu pred 54 rokmi (1964), keď bol úspešne dokončený štátny program ozdravenia chov od tejto choroby. Obdobie rokov 1956 – 1959 sa považovalo za etapu predbežnej depistáže a prípravy celoštátneho boja proti brucelóze a tuberkulóze. Epizootologický prieskum rozšírenia brucelózy vo všetkých chovoch h. d. sa začal v roku 1959, keď sa sérologickými testami vyšetrilo 2 317 411 kusov (52,94 %) populácie. Prevalencia brucelózy dosahovala vrchol v roku 1961 – 2,42 % (106 233 kusov) a v decembri 1964 klesla na nulové hodnoty. V rokoch 1959 – 1964 bolo v Československu evidovaných celkom 29 000 nových prípadov brucelózy, ktoré komplikovali ozdravný proces. Postihnuté boli predovšetkým veľkochovy. Rok 1960 bol začiatkom organizovaného tlmenia choroby vo všetkých chovoch. Najvyššie hodnoty prevalence brucelózy h. d. sa zaznamenali k 1.1. 1961 (106 233 kusov; 2,41 %). V období rokov 1961 – 1966 sa vyradilo 118 504 kusov dobytka s brucelózou; nových prípadov bolo 19 596 kusov. V rokoch 1965 – 1966 (po eliminácii) sa evidovalo len 476 nových sérologicky pozitívnych prípadov (5,4 kusov na 100 000 kusov dobytka ročne); do tohto počtu patrili aj zvieratá očkované vakcínou B-19.

Ozdravovací proces zo začiatku sa realizoval eliminačnou metódou – postupným vyradovaním brucelózných kusov dobytka. V ďalšom období sa uplatnila radikálna metóda, pri ktorej sa vyradili a nahradili celé brucelózne chovy. Pri tlmení brucelózy (a tuberkulózy) sa osvedčil úradný – veterinárny príkaz na zabitie hovädzieho dobytka, ktorý umožnil finančnú likvidáciu škôd cez Štátnu poisťovňu v úžitkovej cene zvieratá. Incidencia bovinnej brucelózy u ľudí klesla v súlade so zlepšenou epizootologickou situáciou z 0,80 v roku 1961 na 0,07 na 100 000 obyvateľov v roku 1965. Je nesporné, že dôležitým protinákazovým opatrením bola pasterizácia všetkého mlieka a dôkladná tepelná úprava mlieka v ohniskách nákazy, zabíjanie zvierat chorých na brucelózu na sanitných bitúnkoch a spravovanie ich mäsa výlučne po tepelne úprave. Eradikačný postup si vyžadoval riešenie mnohých zložitých problémov metodického, legislatívneho, organizačného, ekonomického a sociálneho charakteru.

V diagnostickom procese dominovali sérologické testy, doplnené epizootologickým a epidemiologickým rozborom a ďalším laboratórnym vyšetrením. Vybudovala sa sieť laboratórnych diagnostických zariadení a asanačných ústavov. K dispozícii bola vlastná výroba štandardného antigénu, séra a alergénu. Protibrucelózne programy boli vybudované sa všetkých riadiacich úrovniach veterinárnej služby. Na ozdravenie chovov h. d. štát poskytol priamu finančnú pomoc a všetky služby v protibrucelóznom programe boli bezplatné. Pre trvalé zabezpečenie eradikačného programu bol v ďalších rokoch aplikovaný systém intenzívnej epizootologickej bdlosti (surveillance), a to s rozsiahlou preventívnou činnosťou v chovoch i modernizáciou laboratórnych metód a osvetou. Kontrola nakažlivých ochorení patrila k prioritám štátnej politiky. Eradikácia brucelózy zachránila tisíce ľudí pred ochorením. Československo sa zaradilo medzi prvé štáty na svete, v ktorých bola bovinná brucelóza eliminovaná. Výsledky eradikácie bovinnej brucelózy sa premietajú dodnes.

Záver

Doteraz nepoznáme nič významnejšie vo veterinárnej profesii v bývalom Československu ako bolo utlmenie brucelózy hovädzieho dobytka v roku 1964 (a tuberkulózy v roku 1968). Boj proti brucelóze bol dôsledný, plánovitý, komplexný, v súlade s hospodárskymi plánmi a v spolupráci so zainteresovaným organizáciami. K realizácii programu bola prispôbená organizácia veterinárnej služby, a to na úrovni

celoštátnej, krajskej a okresnej. Predpokladom zvládnutia náročného boja utlmenia brucelózy bola odborná zdatnosť a pracovné odhodlanie veterinárnych lekárov v praxi, odborná zdatnosť kompetentných autorít na rôznych stupňoch riadenia, zákonodarná múdrosť (protibrucelózna legislatíva, inštrukcie), vynikajúca laboratórna diagnostika (diagnostické štandardy), vynikajúce pregraduálne a postgraduálne vzdelanie a správne informovaná verejnosť (rozsiahla osvetová činnosť) a podobne. Rozhodujúca bola hmotná pomoc štátu už od roku 1956. Finančné náklady na celý program tlmenia brucelózy dosiahli okolo štvrt' miliardy korún. Všetky služby v rozsahu programu proti brucelóze boli bezplatné, a to vrátane úhrady rozdielu medzi úžitkovou a jatočnou cenou hovädzieho dobytku. Patrili sme medzi prvé štáty na svete ozdravené od bovinnej brucelózy. Vyriešil sa aj základný a rozhodujúci článok bovinnej brucelózy u ľudí (dosiahla sa nulová incidencia). V ďalších rokoch sa aplikoval intenzívny systém dohľadu (surveillance) nad brucelózou.

Literatúra

- Hajdu, Š. (1961): Najnovšie poznatky o sérodiagnostike brucelózy. Veterinársky časopis, 10, 258-265.
- Andrle, O. (1962): Eradikace brucelózy skotu metodu radikální likvidace. (*The Eradication of Brucellosis by a Radical Method of Liquidation*). Veterinární medicína, 7 (35), 4-5, 335-337.
- Dražan, J. (1962): Metody ozdravování chovů skotu, zamořených brucelózou. (*Methods of Cattle Assanation from Brucellosis*). Veterinární medicína, 7 (35), 4-5, 331-333.
- Hökl, J., Štěpánek, M.: Hygiena potravin II Mléko a mléčné výrobky. Praha, Státný zemědělské nakladatelství 1962, 462 s.
- Kouba, V., Polák, L. (1962): Problematika brucelózy hospodářských zvířat v ČSSR. (*Die Problematic der Haustierbrucellose in der ČSSR*). Veterinární medicína, 7(35), *of Brucellosis of Cattle in Czechoslovakia*. Veterinární medicína, 13, 10, 551-560.
- Kouba, V. (1969): Prevalence brucelózy skotu v Československu. Veterinární medicína, 14, 113-122.
- Kouba, V. (2000): Historie eradikace bovinní brucelózy v České republice. (*History of Eradication of the Bovine Brucellosis in Czech Republic*). Časopis lékařů českých, 139, 8, 227-230.
- Kouba, V. (2003): A method of accelerated eradication of bovine brucellosis in the Czech Republic. Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties (Paris), 22(3), 1003-1012.
- Nižňanský, F., Moravcová-Jelínková, A. (1952): Výsledky prieskumu brucelózy veterinárov v ČSR. Veterinársky zborník, 1, 1-2, 59-65.
- Nižňanský, F., Macuch, P., Krčméry, V., Parráková, E., Krušpán, J. (1967): Hygienické problémy prevencie brucelózy v etape eliminácie podstaty bovinnej brucelózy. Veterinárství, 17, 4, 146-147.
- Bischof, J. (1985): Eradikace brucelózy u skotu v ČSSR – historický mezník. (*Eradication of brucellosis in cattle in Czechoslovakia as a turning point in history of the veterinary care*). Veterinárství, 35, 5, 197-201.
- Smernice o veterinárnej starostlivosti v chovoch zvierat. Časť II. – Veterinárna starostlivosť v chove hovädzieho dobytku. In: Zborník veterinárnych predpisov. Praha, Ministerstvo poľnohospodárstva, lesného a vodného hospodárstva 1962, s. 43-115.
- Vyhláška č. 25 Ministerstiev zdravotníctva a pôdohospodárstva z 23. februára 1960 o ochranných opatrenia v brucelózných stajniach a izolátoch. In: Zborník veterinárnych

predpisov I. diel, Praha, Ministerstvo poľnohospodárstva, lesného a vodného hospodárstva 1962, s.281-288.

Zákon č. 66 z 26. júna 1961 Zb. o veterinárnej starostlivosti. In: Zbierka zákonov, roč. 1960, čiastka 11, por. č. 25.

Československé veterinární přípravky. Praha, Spofa sdružení podniků pro zdravotnickou výroku 1959, 658 s.

Šimko, Š. (2003): History of the first decade of production of antibiotics in former Czechoslovakia. Slovakofarma Revue, 13, 1, 27-30.

Appendix

V štátnom programe eradikácie brucelózy sa používali československé biopreparáty pre laboratórnu diagnostiku, a to: – *Brucella abortu antigén pre pomalú aglutinačnú skúšku*; na požiadanie bolo možné pripraviť – *Antigén Brucella suis*, prípadne – *Antigén Brucella melitensis*, – *Brucella abortus antigén pre rýchlu aglutináciu podľa Diernhofera* a – *Brucella abortus antigén pre krúžkovú reakciu v mlieku podľa Herrmanna*, – *Brucella abortus (nekorpuskulárny) antigén k väzbe komplementu*, – *Brucelový alergén F* (podľa Kolára), – *Sérum pozitívne Brucella abortus*, – *Sérum pozitívne Brucella suis* a – *Sérum pozitívne Brucella melitensis*.

K dispozícii bola *Vakcína B 19* k ochrannému očkovaniu proti nákazlivému zmetaniu hovädzieho dobytku (Československé veterinární přípravky, Spofa 1959).

V roku 1959 (desiaty rok výroby československých antibiotík) bolo k dispozícii deväť základných antibiotík: *penicilín*, *streptomycín*, *aureomykoín*, *oxymykoín*, *tetracyklín*, *erytromycín*, *neomycín*, *fungicidín* a *syntetický chloramfenikol*. *Streptomycín* sa vyrábal iba jeden rok Na liečenie brucelózy ľudí v bývalom Československu boli k dispozícii antibiotiká domácej výroby, a to už od októbra 1957, keď sa začal vyrábať *tetracyklín* z produkčného kmeňa *Streptomyces aureofaciens* (Šimko, 2003).

Kontaktná adresa

Doc. MVDr. Štefan Šimko, CSc.

Nová 11, 962 21 Lieskovec, Slovenská republika

e-mail: mvdr.simko@mail.com

**Eradikácia bovinnej tuberkulózy (*Mycobacterium bovis*) v bývalom
Československu (teraz Česká republika a Slovenská republika)
*Eradication of bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in the former
Czechoslovakia (Now the Czech Republic and Slovak Republic)***

Šimko, Š., Buš, A., Šimko, J.

Nová 11, 962 21 Lieskovec, Slovenská republika

Mečířova 47, 612 00 Brno, Česká republika

Regionálna veterinárna a potravinová správa Zvolen, Nám. SNP 50, 960 01 Zvolen,
Slovenská republika

Súhrn

Pred 50. rokmi v roku 1968 sa dosiahlo ozdravenie hovädzieho dobytku od tuberkulózy (*Mycobacterium bovis*) na celom území Československa. Na Slovensku sa tento úspech dosiahol rok predtým, v roku 1967. Štátny program ozdravenia začal v roku 1959 prieskumom celej populácie hovädzieho dobytku tuberkulinačnými testami. Zistená situácia bola vážna; 92 % chovov bolo nakazených tuberkulózou. Prevalencia v priemere dosahovala 23,0 %, u dojníc 32,6 %. Každá tretia dojnica bola tuberkulózná, čo potvrdzovali a jatočné nálezy. Ozdravovací proces bol založený na metóde „test and slaughter“, teda na odhalení a odsúťranení chorých a alergicky pozitívnych zvierat a na výmene celých výrazne zamorených stád za zdravé. Boli hlásené stovky prípadov ochorenia ľudí vyvolaných *M. bovis*. To si vyžiadalo riešenie mnohých zložitých problémov metodického, legislatívneho, organizačného, ekonomického a sociálneho charakteru. Zaviedla sa povinná pasterizácia všetkého konzumného mlieka. Tuberkulinačné testy celej populácie dobytku (v priemere dvakrát ročne), doplnené epizootologickými, laboratórnymi i postmortálnymi vyšetreniami viedli k odkrytiu všetkých ohnísk. Veľký význam mala dobrá koordinácia práce medzi veterinármi (2 500 veterinárnych lekárov z praxe, bitúnkov, laboratórií, výskumu, univerzít, štátnych veterinárnych autorít na všetkých stupňoch riadenia veterinárnej činnosti po dobu takmer 10 rokov eradikačného programu, ktorý bol súbežný s programom tlmenia brucelózy), farmármi, epidemiológmi, nákupnými organizáciami, potravinárskym, chemickým, strojárskym priemyslom a štátnou správou. Finančná podpora štátu bola vo výške okolo 1 miliardy 52 miliónov korún. Dosiahnuté výsledky sa priaznivo premietajú v chovoch zvierat doteraz.

Abstract

Fifty years ago, in 1968, eradication of tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in cattle was completed on the whole territory of Czechoslovakia. In Slovakia, this success was achieved one year earlier, in 1967. The state eradication programme started in 1959 by investigation of total cattle population using tuberculine testing. The found situation was very serious as 92 % of cattle herds were infected with tuberculosis. The prevalence reached in cattle 23,0 % and in dairy cows 32,6 %. Every third milking cow had tuberculosis, as it was confirmed by post mortem findings after slaughtering. The process of eradication was based on “test and slaughter” approach i.e. to find and remove the clinically sick and allergic positive animals as well as on replacement of whole markedly sick herds by healthy ones. Hundreds of cases in humans caused by *M. bovis* were notified. It required solution of many complicated problems

of methodical, legislative, organizational, economical and social character. Mandatory pasteurization of all produced milk was introduced. Tuberculine testing of the whole population (on average twice a year) supplemented by epizootological, laboratory and post mortem examinations led to uncovering of all foci of the infection. Of great importance was also good coordination of the programme with veterinarians (2 500 veterinary professionals i.e. veterinary practitioners, veterinarians serving in slaughterhouses, laboratories, scientific research institutions, universities as well as at all levels of the State veterinary administration participated in the successful implementation of the eradication programme nearly over the period of 10 years, which ran parallel to brucellosis eradication programme, including farmers, epidemiologist, contract purchasers, chemical and machinery industry and state administration. The financial support provided by the state amounted to 1 billion and 52 million crowns. The positive results which were achieved have been felt favourably in livestock breeding up to the present.

Klíčové slová: *Mycobacterium bovis*, *bovinná tuberkulóza*, *ozdravovací proces*

Úvod

Nepriaznivú situáciu v tuberkulóze (*Mycobacterium bovis*) hovädzieho dobytká v bývalom Československu v povojnových rokoch sa nepodarilo zvládnuť ani v prvých rokoch kolektivizácie poľnohospodárstva (1950 až 1955). V roku 1959 sa v Československu vykonal rozsiahly prieskum tuberkulózy (ďalej tbc) hovädzieho dobytká, ktorý sa opieral o plošnú tuberkulináciu, epizootologické analýzy, nálezy na bitúnkoch a v laboratóriách. Vyšetřilo sa 3 739 355 kusov (v Čechách 2 629 705, na Slovensku 1 109 650 kusov); nakazených bolo v celom štáte 859 577 (22,98 %), v Čechách 628 276 (13,89 %) a na Slovensku 231 281 (20,85 %) kusov dobytká. Za zamorený chov tbc sa považoval taký, kde sa u dobytká intravitálne alebo postmortálne zistila tbc, a to až do uplynutia tzv. pozorovacej doby. K 1. 1. 1961 sa tbc zistila u 86,26 % chovov jednotných roľníckych družstiev, 85,46 % chovov štátnych majetkov a v socialistickom sektore celkom u 85,26 % podnikov.

Organizovaný boj proti tbc hovädzieho dobytká sa začal na základe uznesenia vlády zo dňa 29. decembra 1959 a zvlášť č. 781 zo dňa 16. septembra 1959 o postupnej likvidácii tbc a brucelózy v Československu a uznesenia Zboru povereníkov č. 456 zo 17. decembra 1959. Podľa harmonogramu vypracovaného na základe týchto uznesení sa likvidácia tbc na Slovensku mala ukončiť do roku 1970. Súčasne sa začal plniť aj program eradikácie brucelózy dobytká (*Brucella abortus*), ktorý sa úspešne skončil koncom roku 1964.

Je práve 50 rokov (2018), čo sa úspešne dovŕšila eliminácia tbc (*M. bovis*) hovädzieho dobytká v Československu. Vraciame k tejto problematike, pretože tuberkulóza je stále živá „*Tuberculosis semper viva*“.

Materiál a metóda

Predkladaná práca sa opiera o oficiálne údaje Štátnej veterinárnej správy v bývalom Československu o zdravotnom stave hovädzieho dobytká (tbc), právne predpisy (zákon o veterinárnej starostlivosti č. 66/1961 Zb., vládne nariadenia, vyhlášky, smernice, laboratórne metodiky a usmernenia), veterinárne štatistické ročenky a niektoré literárne údaje (Dražan, 1962; Kouba, Bischof, 1966; Popluhár, Vrtiak, 1966; Kouba, Polák, 1967; Pleva, Árvay, 1967; Laktiš a kol., 1970; Koudela, Rubeš, 1970; Koudela a kol.,

1971; Straka, 1985; Kouba, 1999; Pavlas, 1999; Šimko, 2001, 2001a, 2012) i československé štátne normy (napr. Dezinfekcia, dezinfekcia a deratizácia k ochrane zvierat a ku zdoľaniu nákaz zvierat).

Výsledky a diskusia

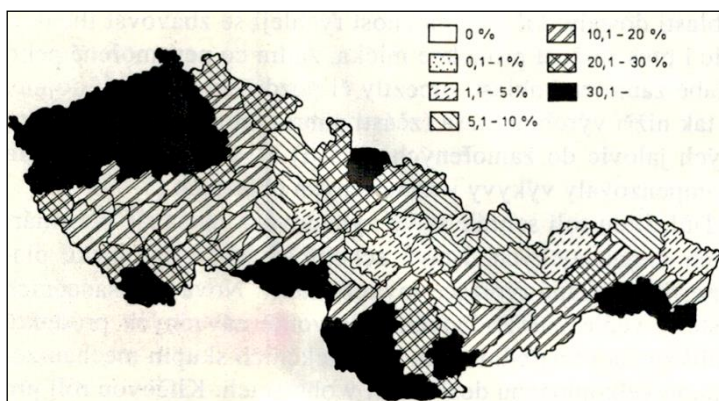
Pri významných výročiach je zvykom zhodnotiť uplynulý vývoj, zbilancovať vykonanú prácu a dosiahnuté výsledky. Umožňuje to vyvodit' závery pre našu súčasnú činnosť. Päťdesiatštyri rokov od utlmenia brucelózy a päťdesiat rokov od utlmenia bovinnej tuberkulózy je dostatočne dlhá doba pre obzretie sa späť na to, čo sme vykonali, na úspechy i sklamania v jednotlivých etapách nášho boja proti týmto chorobám. Má to význam i preto, že sa tu vystriedala/i generácia/e príslušníkov veterinárnej praxe, školstva a vedy. Väčšina týchto pracovníkov už nie je medzi nami. Je na nás ešte aktívnych, aby sme ešte dlho nezabúdali a sprítomnili minulé aspekty boja proti týmto zoonózam a zanechali písomný odkaz na ich vykonané dielo. „Vyslovený hlas letí, napísané slovo zostáva.“ Nič nesmie a nemá byť zabudnuté. Lebo v dierach sa hneď usadia mýty a mýty majú tendenciu skamenieť na nemenné pravdy.

Po vydaní vládneho nariadenia (č. 781 zo dňa 16. septembra 1959) o postupnej likvidácii sa pristúpilo k vyradovaniu tbc zvierat v Československu. Hlavnými a široko realizovateľnými diagnostickými metódami bola tuberkulinácia (PPD tuberkulin, Bioveta) a postmortálny dôkaz tbc u jatových zvierat. Základnou metódou zvládnutia tbc dobytky bol „test and slaughter“ – odhalenie a odstránenie klinicky chorých a alergicky pozitívnych kusov.

Stav zamorenia hovädzieho dobytky tbc k 31.12.1959 v Československu je sumarizovaný v tabuľke 1. Prevalencia bovinnej tbc v jednotlivých správnych územiach (okresoch) Československa k 1. januáru 1961 (o rok neskoršie) je znázornená na obrázku 1. Tbc hovädzieho dobytky a kráv (dojníc) v rokoch 1961–1965 je v tabuľke 2 a nálezy tbc u hovädzieho dobytky (1963–1968) v tabuľke 3.

Tabuľka 1: Stav zamorenia hovädzieho dobytky tuberkulózou k 31. 12. 1959

Oblasť	Zvieratá		Podiel v %	
	vyšetrené	nakazené	vyšetrených zvierat	chorých zvierat
České kraje	2 629 705	628 276	88,05	23,89
Slovensko	1 109 650	231 281	84,31	20,84
Československo	3 739 355	859 557	85,90	22,98



Obrázok 1: Prevalencia bovinnej tuberkulózy v Československu k 1. januáru 1961

K 1.1. 1966 zostalo na území Československa ešte 206 596 kusov dobytka postihnutého tbc (4,84 % z vyšetrených oproti 22,68 % zo začiatku roka 1961, z toho 161 160 kráv. Veterinárna prehliadka mäsa jatčných zvierat sa významne podieľala patologicko-morfologickou kontrolou vrátane laboratórnych vyšetrení na eradikácii tbc dobytka. Za obdobie tlmenia tbc za odhalilo 866 540 pozitívne reagujúcich kusov. Ak počet reagujúcich zo začiatku roka 1959 bol 497 006 tbc kusov, tak sa ozdravovací proces týkal 1 363 546 tbc kusov hovädzieho dobytka, z ktorých prevažnú väčšinu (841 991 ks) tvorili dojnice.

Tabuľka: 2 Tuberkulóza dobytka a kráv v krajoch bývalého Československa k 1.1.1961 a 1.1.1965 (údaje v % z počtu vyšetrených)

Kraj	Hovädzí dobytok (počet chorých; % z vyšetrených)				Kravy (počet chorých; % z vyšetrených)			
	k 1.1.1961		k 1.1.1965		k 1.1.1961		k 1.1.1965	
	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%
UNV Praha	1 112	52,60	73	3,20	826	70,12	57	5,97
Stredočeský	147 212	33,41	51 830	10,71	104 546	50,23	37 319	16,77
Juhočeský	71 859	19,48	18 827	4,53	54 034	31,77	14 315	7,34
Západočeský	91 167	30,48	25 895	7,85	62 397	44,43	21 635	14,17
Severočeský	89 912	47,23	32 650	14,27	63 200	71,19	27 497	27,90
Východočeský	69 136	12,22	7 206	1,43	55 009	21,45	5 876	2,33
Juhomoravský	88 292	15,33	5 524	0,94	54 906	20,91	2 157	0,80
Severomoravský	72 249	12,54	16 262	4,30	55 900	29,96	14 197	7,59
Západoslovenský	162 316	32,97	36 696	7,20	97 183	45,68	27 193	13,62
Stredoslovenský	36 792	10,16	3 265	0,79	28 568	15,10	2 989	1,11
Východoslovenský	63 844	20,10	8 339	2,04	46 080	26,74	7 928	4,11
Československo	393 793	22,68	206 567	4,84	622 736	30,42	161 160	8,27

Tabuľka 3: Nálezy tuberkulózy hovädzieho dobytka v Československu (údaje v % z počtu zabitých)

Rok	Kravy	Býky a voly	Jalovice	Tel'ce
1963	35,91	11,54	17,98	0,66
1964	32,96	10,90	16,15	0,61
1965	30,33	9,15	12,30	0,64
1966	23,61	6,56	8,72	0,34
1967	15,54	3,84	5,04	0,18
1968	4,94	1,53	1,50	0,03

V záujme ochrany zdravia ľudí a zabránenie šírenia infekcie v animálnych populáciách boli vydané príslušné usmernenia, napr. „Smernice pre ochranu pracovníkov zamestnaných pri ošetrovaní zvierat postihnutých tuberkulózou“ s prílohou „Poriadok pre izoláty a prevádzkarne zamorené tuberkulózou hovädzieho dobytká“ (Hygienické predpisy Ministerstva zdravotníctva, 1960). Moderný Zákon č. 66 z 26. júna 1961 o veterinárnej starostlivosti, vykonávacie vyhlášky k nemu, zásady rozhodnutia o mlieku, veterinárnom vyšetrení jatočných zvierat a mäsa pri nákazách i československé štátne normy tvorili právny základ správnej veterinárnej praxe.

Štátny program tlmenia bovinnej tbc sa úspešne skončil vo všetkých okresoch na Slovensku 15. 12. 1967, to znamená s jednoročným predstihom oproti plánu. V celom Československu sa chovy ozdravili v roku 1968.

Dôležitým ukazovateľom stavu chorobnosti hovädzieho dobytká a účinnosti proti tbc opatrení boli i patologické nálezy u zabitého dobytká na bitúnkoch. Veterinárna prehliadka jatočných zvierat a mäsa mala zásadný prínos v priebežnej patologicko-morfologickej kontrole eliminácia tbc, úspešnosti i spoľahlivosti intravitálnej diagnostiky. Výsledky diagnostiky tbc jatočných zvierat mali v konečných fázach eradikácie náказы tiež nepopierateľný a cenný význam študijný i historický

Jatočné nálezy a ich vyhodnocovanie boli významným kontrolným miestom posudzovania zmien vo vývoji zdravotného stavu zvierat a poskytovali spätný pohľad na výsledky činnosti veterinárnej služby, zvlášť na výsledky ozdravovacích programov. V protinákazových opatreniach bitúanky zohrávali mimoriadne dôležitú diagnostickú a kontrolnú úlohu. Bitúankové nálezy sa spätne premietali do protinákazových opatrení nielen celoštátne, ale i v krajoch, okresoch a priamo v poľnohospodárskych závodoch.

Na plánovanej eradikácii tbc sa výrazne podieľa veterinárna prehliadka jatočných zvierat a mäsa, pri ktorej sa spoľahlivo posúdil súlad klinických príznakov či tuberkulinačnej skúšky a postmortálneho patologicko-anatomického nálezu. Podiel na výsledkoch mala protituberkulózná legislatíva, inštrukcie a diagnostické štandardy, rozsiahle špecifické, informačné, monitorovacie a kontrolné systémy, postgraduálna výchova, osvetová a publikačná činnosť. K odbornému vedeniu bola zriadená špecializácia krajských a okresných špecialistov – epizootológov. Na riadiacich úrovniach pôsobili tzv. nákazové komisie pre kontrolu programu a koordináciu medzi zúčastnenými zložkami. V záujme trvalého zabezpečenia výsledkov v ďalších rokoch budoval sa systém epizootologickej (epidemiologickej) surveillance, ktorý spočíval na preventívnom vyšetrení v teréne i v laboratóriách a trvá dodnes.

Záver

Eradikáciou bovinnej tbc (1968) (a brucelózy (1964) v Československu sme sa v ochrane zdravia dobytká zaradili medzi popredné štáty na svete. Podarilo sa tmiť obidve náказы súčasne a ozdravovacie metódy vhodne kombinovať. Bez precíznej a zdokonalenej diagnostiky tbc by sa ťažko dala zvládnuť eradikácia tejto náказы. Výsledky tohto ozdravovacieho procesu sa priaznivo premietajú dodnes. Poznanie histórie tlmenia bovinnej tuberkulózy (*M. bovis*) v bývalom Československu nie je len známkou vzdelania, ale môže byť prospešné i pre dnešný život, aby nebolo znova objavené už dávno – skôr objavené. Úloha vedy je v tom, že zistené poznatky doplnuje novými, staré opravuje či popiera. Medicína sa nedá robiť podľa návodu, pretože hrozí, že by sme prestali rozmýšľať, analyzovať a skúmať.

Literatúra

- Dražan, J.: Výskyt tuberkulózy hospodárskych zvierat v Československej republike. In: Dražan a kol.: Tuberkulóza hospodárskych zvierat. Praha, ČSAV a SZN 1962, s. 18-34.
- Kouba, V. Bischof, J. (1966): Metody pro konečnou fázi eliminace tuberozy skotu v Československu. Veterinářství, 34, 145-152.
- Popuhár, L., Vrťiak, O. J.: Boj proti tuberkulóze hospodárskych zvierat. Bratislava, Slovenské vydavateľstvo pôdohospodárskej literatúry 1966, 192 s.
- Kouba, V., Polák, V. (1967): K epizootologickým ukazovateľom efektu protituberkulózných opatrení (*Control of Tuberculosis and Epizootic Indicators of its Effect*). Veterinářství, 27, 433-438.
- Pleva, J., Árvay, Š. (1967): K problematike ozdravovania hovädzieho dobytka od tuberkulózy na Slovensku (*Problems with Sanitation of Beef cattle of T. B. in Slovakia*). Veterinářství, 17, 153-157.
- Laktiš, K., Popluhár, L., Árvay, Š. (1970): Súčasná epizootická situácia tuberkulózy na Slovensku (*Contemporary Epizootic Situation Concerning the Incidence of tuberculosis in Slovakia*). Veterinářství, 20, 341-345.
- Koudela, K., Robeš, B. (1970): Dynamika tuberkulózy jatečných zvierat v ČSSR v posledných letech (*The Tuberculosis Dynamics of Fattened Animals in C. S. S. R. in Recent Years*). Veterinářství, 20, 386-388.
- Koudela, K., Janiček, J., Robeš, B. (1971): K výsledkům veterinární prohlídky zvierat a masa v ČSSR v letech 1967 až 1970 (*Notes on results of veterinary examination of meat*). Veterinářství, 21, 357-363.
- Straka, J. (1985): Utlumení tuberkulózy skotu v Československé socialistické republike (*Eradication of bovine tuberculosis in Czechoslovakia*). Veterinářství, 35, 243-245.
- Kouba, V. (1999): Historie eliminace bovinní tuberkulózy v České republike (*History of the eradication of Bovine Tuberculosis in the Czech Republic*). Časopis lékařů českých, 15, 456-459.
- Pavlas, M. (1999): The 30th Anniversary of Eradication of Bovine Tuberculosis in Cattle in Czechoslovakia. Acta Veterinaria Brno, 68, 155-162.
- Šimko, Š. (2001): História výskytu a tlmenia bovinnej tuberkulózy v Slovenskej republike. I. Východiskový stav do roku 1959 (*History of occurrence and damping down of bovine tuberculosis in the Slovak republic. I. Initial state to 1959*). Poľnohospodárstvo (Agriculture), 47, 115-126.
- Šimko, Š. (2001a): História výskytu a tlmenia bovinnej tuberkulózy v Slovenskej republike. II. Opatrenia na dosiahnutie nulovej prevalencie (*History of occurrence and damping down of bovine tuberculosis in the Slovak republic. II. Measures to achieve zero prevalence*). Poľnohospodárstvo (Agriculture), 47, 409-424.
- Šimko, Š. (2012): Spomienka na elimináciu bovinnej tuberkulózy (*Mycobacterium bovis*) na Slovensku (*Recollection of elimination of bovine tuberculosis (Mycobacterium bovis) in Slovakia*). Slovenský veterinársky časopis (*Slovak Veterinary Journal*), 37(4), 233-236.
- Zákon č. 66 z 26. júna 1961 Zb. o veterinárnej starostlivosti. In: Zbierka zákonov, roč. 1960, čiastka 11, por. č. 25.
- Vyhláška ministerstva zemédelství č. 187 s 12. 12. 1958 o opatreniach proti tuberkulóze skotu.
- Sbírka instrukcií pro výkonné orgány národních výborů. 1959, čiastka 1, poř. č. 2.

Smernice o veterinárnej starostlivosti v chovoch zvierat. Časť II. – Veterinárna starostlivosť v chove hovädzieho dobytku. In: Zborník veterinárnych predpisov. Praha, Ministerstvo poľnohospodárstva, lesného a vodného hospodárstva 1962, s. 58-68.

Smernice pre ochranu pracovníkov zamestnaných pri ošetrovaní zvierat postihnutých tuberkulózou. Hygienické predpisy Ministerstva zdravotníctva č. j. HE 3722 zo dňa 26. 6. 1960. In: Zborník veterinárnych predpisov. Praha, Ministerstvo poľnohospodárstva, lesného a vodného hospodárstva 1962, s. 274-278.

Poriadok pre izoláty a prevádzkarne zamorené tuberkulózou hovädzieho dobytku. In: Hygienické predpisy Ministerstva zdravotníctva, 1960, č. 23. In: Zborník veterinárnych predpisov. Praha, Ministerstvo poľnohospodárstva, lesného a vodného hospodárstva 1962, s. 279-280.

Československá štátna norma – ČSN 46 6019 Dezinfekcia, dezinfekcia a deratizácia k ochrane zvierat a ku zdolaniu nákaz. In: Zborník veterinárnych predpisov. Praha, Ministerstvo poľnohospodárstva, lesného a vodného hospodárstva 1962, s. 286-307.

Československé veterinárni prípravky. Praha, Spofa sdružení podniků pro zdravotnickou výroku 1959, 658 s.

Appendix

K dispozícii boli československé biopreparáty pre k alergickým skúškam: – *Tuberkulín k očnej skúške*, (starý Kochov tuberkulín bovinného typu, nezriedený); – *Tuberkulín k vnútrokožnej (intradermálnej) skúške*, (starý Kochov tuberkulín bovinného typu, 50 %), – *Tuberkulín k podkožnej skúške*, (starý Kochov tuberkulín bovinného typu, 10 %) a – *Tuberkulín vtáčí* (starý Kochov tuberkulín vtáčieho typu, nezriedený, 50 %) (Československé veterinárni prípravky, Spofa 1959).

V obrazovej prílohe sú niektoré technické nástroje pre diagnostiku tuberkulózy v čase jej eradikácie v Československu (Prílohy 1 až 5).

Obrazová príloha



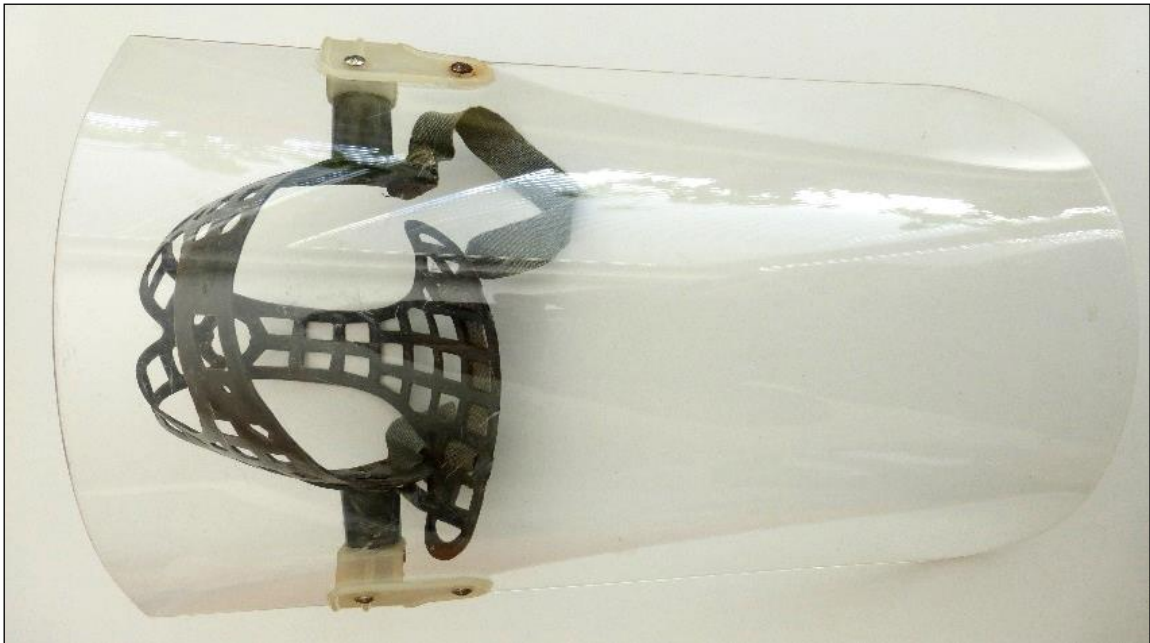
Príloha 1: Tuberkulinačné striekačky puzdra na ihly



Príloha 2: Tuberkulinačné striekačky a injekčné ihly československej výroby



Príroda 3: Kutimeter



Príloha 4: Ochranný štít na tvár (pre vyšetrenie otvorených foriem tuberkulózy)



Príloha 5: Fonendoskop

Kontaktná adresa

doc. MVDr. Štefan Šimko, CSc.
Nová 11, 962 21 Lieskovec, Slovenská republika
e-mail: mvdr.simko@mail.com

**Pasterizácia mlieka v bývalom Československu
(teraz Česká republika a Slovenská republika)
*Pasteurization of milk in the former Czechoslovakia
(Now the Czech Republic and the Slovak Republic)***

Šimko, Š., Buš, A., Šimková, Z.

Nová 2889/11, 962 21 Lieskovec, Slovenská republika
Mečířova 47, 612 00 Brno, Česká republika
Technická univerzita vo Zvolene, T. G. Masaryka 20, 961 01 Zvolen,
Slovenská republika

Súhrn

Vládnym nariadením československého štátu z roku 1934 sa postupne zakazoval predaj surového mlieka a zavádzala sa povinná pasterizácia mlieka (kontinuálna - prietoková), ktorá v modernejšej podobe trvá dodnes. Povinná pasterizácia bola významným zdravotným opatrením úradných autorít proti riziku prenosu patogénov (najmä tuberkulózy) na ľudí a k zabezpečeniu zdravotnej nezávadnosti mlieka a výrobkov z neho; predĺžila sa ich trvanlivosť. Pasterizácia mlieka neskoršie prispela aj pri štátnom programe eradikácie brucelózy (*Brucella abortus*) a tuberkulózy (*Mycobacterium bovis*) hovädzieho dobytku a významne posilnila boj proti zoonózam, systémovým infekčným ochoreniam a iným mikrobiologickým rizikám, ktoré sa prenášali mliekom a ohrozovali verejné zdravie. Dnes sú podmienky pasterizácie štandardizované tak, aby efektívne ničili (vplyvom tepla; denaturáciou proteínov) *M. tuberculosis* a *Coxiella burnetii*, ktoré sú relatívne tepelne rezistentné, mliekom prenášané zoonotické patogény a zabíjali mikroorganizmy spôsobujúce kazenie mlieka a mliečnych výrobkov, a to bez poškodenia ich nutričných a iných znakov kvality.

Summary

Government Regulation of the Czechoslovak state of 1934 gradually banned the sale of raw milk and a mandatory milk pasteurization (using continuous process) was introduced which in the modernized form has continued up to the present. The mandatory pasteurization was a significant health precaution taken by official authorities against the risk of pathogens transmission (particularly tuberculosis) to people and safeguard milk and milk products safety for consumers in addition to that their shelf life was extended too. The milk pasteurization also contributed at first to government program for eradication of brucellosis (*Brucella abortus*) and tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in cattle and significantly bolstered up the combat against zoonoses, systemic infectious diseases and other microbial risks transmissible by milk and posed a threat to public health. Nowadays the conditions of pasteurization are standardized in order to effectively destroy (by heat effect, protein denaturation) *M. tuberculosis* and *Coxiella burnetii*, that are relatively heat-resistant milk-borne zoonotic pathogens, and to kill microorganisms causing spoilage of milk and milk products without damaging their nutritional and other characteristic features of quality.

Kľúčové slová: *surové mlieko, pasterizácia mlieka, mikrobiologické riziko*

Úvod

V Československu bola uzákonená pasterizácia mlieka na verejné zásobovanie už v roku 1934 a stúpila do platnosti v roku 1935 (Šimko, Šimková, 2004). Potreba pasterizácie mlieka na verejné zásobovanie bola iniciovaná požiadavkami úradných (hygienických) autorít tej doby, a to najmä v súvislosti s tuberkulózou. Výskyt mimoplúcnej tuberkulózy u ľudí sa začal spájať s konzumáciou surového mlieka od dojníc s tuberkulózou vemena alebo sekundárne od ľudí chorých na tuberkulózu prostredníctvom nadojeného mlieka (Dražan a kol., 1962; Hökl, Štěpánek, 1962). Na dokreslenie vtedajšej situácie sú dôležité nálezy, ktoré spomínajú, že tržné mlieko laboratórne vyšetrované v Brne v roku 1932 obsahovalo v 10 – 15 % tuberkulózne zárodky (Dražan a kol., 1962). Surové (nepasterizované) mlieko sa považuje za hlavnú príčinu šírenia brucelózy (*Brucella abortus*, *B. mellitensis*) a bovinnej tuberkulózy (*M. bovis*) aj dnes (EFSA, 2015). Preto pasterizačné postupy v tomto čase boli štandardizované na deštrukciu *Mycobacterium tuberculosis* a relatívne rezistentné, spóry netvoriace patogénne baktérie v mlieku; dnes sú štandardizované na efektívne ničenie *M. tuberculosis* a *Coxiella burnetii*.

Účelom tohto príspevku je poukázať na uzákonenú pasterizáciu mlieka a jej prínos pre tlmenie niektorých zoonóz (najmä tuberkulózy a brucelózy) v bývalej spoločnej republike – Československu, a to najmä v rokoch 1959–1968. Eradikácia týchto chorôb je diskutovaná v samostatných prácach publikovaných v zborníku medzinárodnej vedeckej konferencie: Hygiena a technologie potravín XLVIII. Lenfeldovy a Höklövy dni 100. výročí založení Vysoké školy zvěrolékařské v Brne (Šimko a kol., 2018, 2018a).

Materiál a metóda

Práca čerpá údaje z právnych predpisov (Vládne nariadenie č. 75/1934 Sb., Vládne nariadenie č. 76/1934 Sb; Zákon č. 66/161 o veterinárnej starostlivosti a vykonávacie predpisy k nemu), knižných (Dražan a kol., 1962; Hökl, Štěpánek, 1962; Štatistická ročenka, 1986) a časopiseckých publikácií zaoberajúcich sa pasterizáciu mlieka (Šimko, Šimková, 2006) a eradikáciou bovinnej brucelózy (Kouba, 200) a tuberkulózy (Kouba, 2000; Šimko, 2001) v bývalom Československu.

Výsledky a diskusia

Už od roku 1890 sa mlieko pasterizovalo pri teplote 80 – 90 °C, pričom čas zahrievania, ako aj chladenia mlieka sa postupne predlžoval až do ½ min i dlhšie. Prvá priemyselná pasterizácia mlieka na komerčné účely sa robila v Nemecku (1882), potom v Dánsku a Švédsku, neskôršie (1893) v USA – Bloomville, New York (Pijanowski, 1977; Holsinger a kol., 1997). V období medzi 1. a 2. svetovou vojnou sa v súvislosti so všeobecným rozvojom techniky začal technický a technologický pokrok výraznejšie uplatňovať aj v mliekarenskom priemysle. V mliekarnách sa začala používať para, elektrina, nové stroje.

V roku 1928 sa v Československu začali vyrábať tavené syry, v roku 1933 sa začalo s výrobou sušeného a zahusteného mlieka, roku 1935 boli pokyny „O výrobě hrudkového syra a bryndze a jejich uvádění do oběhu“ (zákon 77/1935); „Zákaz prodeje mlékárenský nešetřeného mléka v Praze“ (vyhláška ministerstva zdravotnictva z 8. 2. 1935) (Říha, 1939). Významným medzníkom z hygienického hľadiska bol rok 1934, keď sa zaviedla povinná pasterizácia mlieka na verejné zásobovanie obyvateľstva. Špecifický časový údaj pre pasterizáciu a teplotu pri nej bol postavený tak, aby sa

dosiahol stanovený cieľ zabiť 99 až 99,9 % patogénov, baktérií a plesní spôsobujúcich kazenie potravín.

Vládnym nariadením č. 75 Sb. zo dňa 20. marca 1934 československého štátu o výrobe mlieka a výrobkov z mlieka a obchode s týmito potravinami a právnym doplnkom tohto nariadenia (smernicami zo dňa 28. 11. 1934) sa naplnila dlhodobá snaha popredných hygienikov tej doby. Začal sa uplatňovať zákaz predaja mliekarensky neošetreného mlieka v mestách, kúpeľných miestach, priemyslových strediskách a priľahlom okolí. Vládne nariadenie bolo publikované v Zbierke zákonov a nariadení štátu československého už 28. marca 1934. Nariadenie sa vzťahovalo na mlieko a na výrobky z neho, pokiaľ sú určené na ľudskú spotrebu a pre uvádzanie do obehu.

Podľa štatistických údajov z roku 1936 v Československu bolo 4 296 tisíc kusov hovädzieho dobytku, z toho 2 384 tisíc kus kráv; priemerná dojivosť 2 035,0 l; v roku 1937 spotreba na 1 obyvateľa bola 159,1 l mlieka a 4,9 kg masla (Štatistická ročenka, 1986).

Do obehu sa mohlo uvádzať aj mlieko kozie, ovčie alebo iných zvierat ako kráv. Muselo však byť takto označené. Ak mlieko pri uvádzaní do obehu nebolo označené, predpokladalo sa, že je kravské. Len mlieko od zvierat úplne zdravých sa mohlo bez akéhokoľvek obmedzenia uvádzať do behu a len takéto mlieko sa mohlo používať v živnostenskom predaji k príprave výrobkov a pokrmov z mlieka.

Zakazovalo sa zužitkovať (používať) mlieko uvádzaním do obehu, k príprave výrobkov a pokrmov z mlieka: **a)** od dojníc chorých akútnym alebo chronickým zápalom mliečnej žľazy, chorých s ťažkými horúčkovitými (akútnymi) zápalmi pohlavných orgánov po pôrode (v čase puerperia), s ťažkými horúčkovitými (akútnymi) chorobami vôbec, pokiaľ spôsobujú zmeny mlieka, vleklymi (chronickými) chorobami, pokiaľ porušujú normálne zloženie mlieka, chorobami kože mliečnej žľazy (furunkulóza), od dojníc s otvorenými ranami a vredmi v okolí mliečnej žľazy, ktorých sekrétmi by mohlo dôjsť k znečisteniu mlieka; **b)** mlieko od dojníc 14 dní pred pôrodom a 8 dní po pôrode; **c)** mlieko pokazené (odporne alebo hnilobne páchnuce, horkej chuti, slizovité, výrazne farebne zmenené a pod.); **d)** mlieko pokazené (odporne alebo hnilobne páchnuce, horkej chuti, slizovité, výrazne farebne zmenené a pod.); **e)** mlieko hrubo znečistené, z ktorého sa v priehľadnej nádobe usadzuje z množstva 0,5 l za ¼ hodiny viditeľná usadenina nečistoty; **f)** mlieko, ktoré bolo riedené vodou alebo ktorému sa z jeho prirodzeného zloženia niečo odobralo alebo čokoľvek pridalo; **g)** mlieko konzervované chemickými prostriedkami; **h)** mlieko od zvierat, ktoré boli predchádzajúce 3 dni liečené liekmi, ktoré prechádzajú do mlieka, ako je arzén, jód, arekolín, tartarus stibiatus, aloe, pilokarpín, prípravky ortuti, strychnín a iné.

Úradný, prípadne liečiaci veterinár určil odkedy sa smie mlieko od zvierat, ktoré ochoreli na nejakú chorobu spomenutú vyššie, uvádzať do obehu bez obmedzenia.

Pri výrobe mlieka pre verejnú spotrebu, v zberniach, mliekarniach a pri predaji mlieka a výrobkov z neho nesmeli byť zamestnané osoby choré, ktorých choroba sa mohla mliekom prenášať na spotrebiteľov, a to týfus, paratýfus, diftérie, hnisavé angíny, tuberkulóza, kožná infekcia – erysipelas a podobne; tiež aj osoby, ktorých ochorenie vzbudzuje ošklivosť. Doby zákazu zamestnania chorých osôb stanovil úradný lekár. Toto opatrenie sa vzťahovalo aj na osoby, v ktorých domácnostiach sa zistili vyššie vymenované nákazlivé ochorenia.

Bolo zakázané používať k zahrievaniu mlieka v mliekarniach prístroje, ktoré neboli vybavené registračným teplomerom. Záznamy z registračných teplomerov sa museli označiť dátumom a archivovať aspoň po dobu jedného roka. Pasterizované mlieko

sa mohlo dostávať do obehu len v uzavretých fľašiach a zaplombovaných kanvách. Na uzávere musel byť údaj s dátumom pasterizácie i meno firmy alebo meno mliekarne. Fľaša musela byť uzavretá tak, aby sa nedala bez porušenia uzáveru otvoriť a aby uzáver chránil otvor fľaše pred znečistením.

Vládne nariadenie č. 76. zo dňa 20. 3. 1934 (o stanovení pevných cien mlieka a smotán) oprávňovalo zemské (krajinské) úrady vydával mliekarniam, ktoré vyhovovali podmienkam z hľadiska mliekarskej techniky a hygieny (po ich predchádzajúcej kontrole) – osvedčenie, ktoré oprávňovalo k mliekarskej úprave mlieka a predaj mliekarensky ošetrovaného mlieka, a to podľa smerníc vydaných ministerstvom verejného zdravotníctva a telesnej výchovy po dohode s ministerstvom pôdohospodárstva. V povolení sa určili podmienky a kontrola dodávaného mlieka. Osvedčenie deklarovalo nezávadnosť mlieka. Vyhláška tiež presne formulovala požiadavky na ošetrovateľa mlieka, spôsobilosť vedúcej osoby, úradného dozoru – povinnosti lekára a veterinárneho lekára, požiadavky k udeleniu a odobratiu povolenia.

Postupne vznikali ďalšie právne predpisy, štátne normy a usmernenia, ktoré mali vzťah k hygiene mlieka a mliečnym výrobkom (Hökl, Štěpánek, 1962).

V tejto dobe pasterizácia (účinnosť vysokej teploty) sa používa v rôznych technických zariadeniach s cieľom ničiť mikroorganizmy a dosiahnuť tzv. komerčnú sterilitu, teda nie absolútnu. Vysoká teplota (ale aj mínusové hodnoty okolo 20 °C) vytvorila podmienky pre ochranu potravín pred mikroorganizmami, ktoré sa zúčastňujú pri kazení potravín, vrátane ochrany pred patogénnymi organizmami. Techniky ochrany potravín pred kazením sú rôzne (napr. sušenie mlieka, ovocia a mäsa, prídavok cukru a soli, zníženie vodnej aktivity, regulovaná atmosféra, fermentácia). K pasterizačným procesom sa teraz zaraďuje aj ožarovanie potravín alebo aplikácia vysokého tlaku.

Summa summarum

Povinná pasterizácia mlieka v Československu sa zavádzala postupne. Najskôr v Prahe, od roku 1935 v Brne, Ostrave, Bratislave a ďalších mestách. Pozoruhodné sú niektoré aspekty nariadenia, ktoré sa premietajú do vyhlášok a nariadení dnešnej doby. Nariadenie vlády vysoko moderne definovalo mlieko, muselo byť čerstvé a plné, ktorému sa z jeho prirodzených zložiek nič neubralo a ktoré sa vo svojom prirodzenom zložení žiadanými prísadami nijako nezmenilo či upravilo. Vládne nariadenie presne špecifikovalo a dokonca rozvádzalo pojem mlieko od zdravých kráv a široko objasňovalo, ktoré mlieko sa musí z dodávky vylúčiť. Dokonalý bol popis hrubo znečisteného mlieka, rozvádzali sa spôsoby uchovávanía mlieka, podmienky uvádzania do obehu. Zaujímavé boli zdravotné podmienky pre osoby pracujúce pri výrobe mlieka a ďalšej manipulácii s ním. Zvláštnu pozornosť nariadenie venovalo mliekarniam. Hygienické požiadavky boli zreteľné, zvlášť pasterizácia a činnosť registračných zariadení, spôsob chladenia a pod. Išlo o priekopnícky čin, ak uvážime, že v tridsiatych rokoch minulého storočia sa v českých zemiach pasterizovala len jedna pätina mlieka a na Slovensku ešte menej.

Literatúra

Šimko, Š., Šimková, Z. (2006): Louis Pasteur – 110 rokov od jeho smrti, 70 rokov pasterizácie mlieka v bývalom Československu (*Louis Pasteur – 110 years from his death, 70 years of milk pasteurizing in the former Czechoslovakia*). *Hygiena*, 51, 52-55.
Dražan, J. a kol.: Tuberkulóza hospodárskych zvierat. Praha, Československá akadémia vied ve spolupráci se Státním zemědělským nakladatelstvím 1962, 509 s.

Hökl, J. Štěpánek, M.: Hygiena potravin II Mléko a mléčné výrobky. Praha, Státní zemědělské nakladatelství, 1962, 426 s.

EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazard), 2015. Scientific Opinion on the public health risk related to the consumption of raw drinking milk. EFSA Journal (2015): 33940, 95 pp. Doi: 10.2903/j.efsa.20145, 3940

Šimko, Š., Buš, A., Šimko J. (2018): Eradikácia bovinnej brucelózy (*Brucella abortus*) v bývalom Československu (teraz Česká republika a Slovenská republika) (*Eradication of bovine brucellosis (Brucella abortus) in the former Czechoslovakia (Now the Czech Republic and the Slovak republic)*). In press.

Šimko, Š., Buš, A., Šimko J. (2018a): Eradikácia bovinnej tuberkulózy (*Mycobacterium bovis*) v bývalom Československu (teraz Česká republika a Slovenská republika) (*Eradication of bovine tuberculosis (Mycobacterium bovis) in the former Czechoslovakia (Now the Czech Republic and the Slovak republic)*). In press.

Vládní nařízení č. 75 ze dne 20. dubna 1934 o výrobě mléka a výrobků z mléka a obchodu s těmito potravinami. In: Sbírka zákonů a Nařízení státu československého. Ročník 1934, částka 34, strana 324-330.

Vládní nařízení č. 76 ze dne 20. dubna 1934 o stanovení pevných cen mléka a smetan. In: Sbírka zákonů a Nařízení státu československého. Ročník 1934, částka 34, strana 330- 331.

Statistická ročenka Československé socialistické republiky. Praha, SNTL-Nakladatelství technické literatury 1986, s. 28 a 54.

Kouba, V. (2000): Historie eradikace bovinní brucelózy v České republice (*History of Eradication of the Bovine Brucellosis in Czech Republic*). Časopis lékařů českých, 139, 8, 227-230.

Šimko, Š. (2001): História výskytu a tmenia bovinnej tuberkulózy v Slovenskej republike. I. Východiskový stav do roku 1959 (*History of occurrence and damping down of bovine tuberculosis in Slovak republic. I. Initial state to 1959*). Poľnohospodárstvo, 47, 2, 115-126.

Holsinger, V. H., Rajkowski, T. T., Stabel, J. R. (1997): Milk pasteurisation and safety: a brief history and update. Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties (Paris), 16(2), 441-451.

Pijanowsky, E.: Základy chémie a technológie mliekárstva I. diel. Bratislava, Príroda 1977, s, 267-272.

Říha, J.: Zdravotnická ročenka československá. Praha, Piras akc. spol. 1938, 536 s.

Kontaktná adresa

Doc. MVDr. Štefan Šimko, CSc.

Nová 11, 962 21 Lieskovec, Slovenská republika

email: mvd.simko@mail.com

SEZNAM AUTORŮ

CZECH REPUBLIC

Abdullah Fouad Ali Abdullah, Ing., Ph.D.
Department of Meat Hygiene and Technology
FVHE, VFU Brno
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
Czech Republic
e-mail: abdullahf@vfucz

Bartáková Klára, Ing., Ph.D.
VFU Brno
Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav hygieny a technologie mléka
Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno
e-mail: bartakovak@vfucz

Bogdanovičová Kateřina, Mgr., Ph.D.
VFU Brno Fakulta veterinární hygieny
a ekologie
Ústav gastronomie, Palackého tř.1946/1
612 42 Brno
e-mail: bogdanovicovak@vfucz

Bořilová Gabriela, Ing., Ph.D.
VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny
a ekologie,
Ústav hygieny a technologie masa
Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno
e-mail: gborilova@vfucz

Buňka František, prof., Ing., Ph.D.
UTB ve Zlíně, Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
nám. T. G. Masaryka 5555, 760 01 Zlín
e-mail: bunka@utb.cz

Bursová Šárka, MVDr., Ph.D.
VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny
a ekologie,
Ústav hygieny a technologie mléka
Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno
e-mail: bursovas@vfucz

Cápíková Jana, Bc.
VFU Brno, Fakulta veterinární
hygieny a ekologie, Ústav hygieny
a technologie potravin rostlinného původu
Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno
e-mail: capikovajana@gmail.com

Dluhošová Sandra, MVDr.
VFU Brno
Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav hygieny a technologie mléka
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
e-mail: sandradluhosova@seznam.cz

Doležalová Jana, Ing., Ph.D.
VFU Brno Fakulta veterinární hygieny
a ekologie
Ústav gastronomie, Palackého tř.1946/1
612 42 Brno
e-mail: dolezalovaj@vfucz

Dorotíková Kateřina, Mgr.
VFU, FVHE Brno
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
e-mail: katerina.dorotikova@gnj.cz

Hodulová Lucia, MVDr., Ph.D.
VFU Brno
Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu
Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno
e-mail: hoduloval@vfucz

Đorđević Đani, MSc.
VFU Brno, Palackého tř. 1/3, 612 42, Brno
Tel.: 777 947 831
e-mail: dani_dordevic@yahoo.com

Fašiangová Miroslava, Ing., PhD.
VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny
a ekologie
Ústav hygieny a technologie masa
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
e-mail: fasiangovam@vfucz

Hulánková Radka, Mgr., Ph.D.
VFU Brno
Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav hygieny a technologie masa
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
e-mail: hulankovar@vfucz

Jančíková Simona, Bc.
VFU Brno
Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav hygieny a technologie potravin
rostlinného původu
Palackého tř. 1946/1, 612 42, Brno
e-mail: jancikovas@vfucz

Jandlová Marcela, Ing.
Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav technologie potravin
Zemědělská 1, 613 00 Brno
e-mail: marcela.jandlova@mendelu.cz

Král Tomáš, MVDr., Mgr., Ph.D.
VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny
a ekologie
Ústav veřejného a soudního veterinárního
lékařství
Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno
e-mail: Kralt@vfu.cz

Králová Michaela, MVDr., Ph.D.
VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny
a ekologie
Ústav hygieny a technologie mléka
Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno
e-mail: kralovam@vfu.cz

Křepelová Simona, Mgr., Ing.
VFU, FVHE Brno
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
e-mail: simona.krepelova@seznam.cz,
H17008@vfu.cz

Koudela Břetislav, prof., MVDr., CSc.
VFU Brno, Fakulta veterinární medicíny,
Ústav patologické morfologie a parazitologie
Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno
e-mail: koudelab@vfu.cz

Luňáková Ludmila, Mgr.
VFU Brno, FVHE
Ústav hygieny a technologie potravin
rostlinného původu
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
e-mail: lunakoval@vfu.cz

Macharáčková, Blanka, Ing., Ph.D.
VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny
a ekologie, Ústav gastronomie
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
e-mail: macharackovab@vfu.cz

Mrňousová (Janštová) Bohdana, Mgr., Ing., Ph.D.
VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny
a ekologie, Ústav gastronomie
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
e-mail: janstovabo@vfu.cz

Navrátilová Pavlína, MVDr., Ph.D.
Ústav hygieny a technologie mléka
Fakulta veterinární hygieny
a ekologie, VFU Brno
Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno
e-mail: navratilovap@vfu.cz

Necidová Lenka, MVDr., Ph.D.
Ústav hygieny a technologie mléka
FVHE VFU Brno
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
e-mail: necidoval@vfu.cz

Novotná Kružíková Kamila, Ing., Ph.D.
VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav veřejného a soudního veterinárního lékařství
Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno
e-mail: novotnak@vfu.cz

Ondrušíková Sylvie, Ing.
MENDELU Brno
Agronomická fakulta, Ústav technologie potravin
Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno
e-mail: sylvie.ondrusikova@mendelu.cz

Ostrý Vladimír, doc., MVDr., CSc.
Státní zdravotní ústav v Praze
Centrum zdraví, výživy a potravin
Oddělení hodnocení zdravotních rizik
a aplikované výživy
Palackého 3a, Brno, 612 42
e-mail: ostrý@chpr.szu.cz

Piskatá Zora, MVDr., Ph.D.
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.
Oddělení bezpečnosti potravin a krmiv
Hudcova 70, 621 00 Brno
e-mail: piskata@vri.cz

Tkáč Matej, Mgr.
Ústav hygieny a technologie mléka
FVHE VFU Brno
Palackého tř. 1, 612 42 Brno
e-mail: H17009@vfu.cz

Tremlová Bohuslava, doc. MVDr., Ph.D.
Ústav hygieny a technologie potravin
Rostlinného původu
VFU Brno, Palackého tř. 1/3, 612 42 Brno
e-mail: tremlovab@vfu.cz

Vorlová Lenka, prof., MVDr., Ph.D.
Ústav hygieny a technologie mléka
Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
email: vorloval@vfu.cz

Vošmerová Petra, MVDr., Ph.D.
VFU Brno
Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav veřejného a soudního veterinárního
lékařství, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
e-mail: vosmerovap@vfu.cz

Zachovalová Hana, Ing., Ph.D.
VFU Brno
Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav hygieny a technologie mléka
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
e-mail: zachovalovah@vfu.cz

POLAND

Migdał Władysław, prof. dr hab.
University of Agriculture in Krakow
Faculty of Food Technology
Department of Animal Product Technology
ul. Balicka 122, 31-149 Kraków, Poland
e-mail: wladyslaw.migdal@urk.edu.pl

RUSSIA

Chernukha Irina
V.M. Gorbatov Federal Research Center for
Food Systems of RAS, Experimental-clinical
research laboratory of bioactive substances of
animal origin, 109316, Talalikhina st., 26,
Moscow, Russia
e-mail: imcher@inbox.ru

Kotenkova Elena Alexandrovna, Ph.D.
Experimental clinical-research laboratory
of biologically active substances of an animal
origin
The V.M. Gorbatov All-Russian Meat Research
Institute, 109316, Moscow, Talalikhina str., 26
e-mail: lazovlena92@yandex.ru

SLOVAKIA

Baranová Mária, doc., RNDr., Ph.D.
Ústav hygieny a technológie mlieka, UVLF
Komenského 73, Košice 041 81
tel.: 421 915 984583, e-mail: baranova@uvm.sk

Belej Ľubomír, Ing., PhD.
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
Slovenská poľnohospodárska univerzita
v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitre
e-mail: lubobelej@gmail.com

Čanigová Margita, doc., Ing., CSc.
Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych
Produktov, SPU v Nitre
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
e-mail: margita.canigova@uniag.sk

Mgr. Soňa Demjanová
UVLF v Košiciach
Katedra hygieny a technológie potravín
Ústav hygieny a technológie mäsa
Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
e-mail: Sona.Demjanova@student.uvlf.sk

Drdolová Zuzana, Ing.
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
Slovenská poľnohospodárska univerzita
v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
e-mail: drdolova.zuzana@gmail.com

Ducková Viera, Ing., PhD.
SPU v Nitre
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
Katedra hodnotenia a spracovania
živočíšnych produktov
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
e-mail: viera.duckova@uniag.sk

Dudriková Eva, doc. MVDr. Ph.D.
Ústav hygieny a technológie mlieka, UVLF
Komenského 73, Košice 041 81
tel.: 00 421 903 177 159
e-mail: dudrikova@uvm.sk

Gažarová Martina, Ing., PhD.
SPU v Nitre
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov
Katedra výživy ľudí
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
e-mail: martina.gazarova@gmail.com

Golian Jozef, prof., Ing., PhD.
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
SPU Nitra, Tr. A Hlinku 2, 949 76 Nitra
e-mail: Jozef.golian.af@uniag.sk

Holko Ivan, Doc., MVDr., PhD.
VETSERVIS, s.r.o., Kalvária 3, 949 01 Nitra
e-mail: holko@vetservis.sk

Jevinová Pavlína, MVDr., PhD.
UVLF v Košiciach
Katedra hygieny a technológie potravín
Ústav hygieny a technológie mäsa
Komenského 73, 041 81 Košice
e-mail: pavlina.jevinova@uvlf.sk

Juščáková Daniela, MVDr.
UVLF v Košiciach,
Katedra hygieny a technológie potravín
Ústav hygieny
a technológie mäsa
Komenského 73, 04181 Košice
e-mail: Daniela.Juscakova@student.uvlf.sk

Kolesárová Anna, Ing., PhD.
Katedra skladovania a spracovania
rastlinných produktov
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
e-mail: Anna.Kolesarova@uniag.sk

Kopčeková Jana, Ing., PhD.
SPU v Nitre
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov
Katedra výživy ľudí
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
e-mail: jana.kopcekova@gmail.com

Koréneková Beáta, MVDr., PhD.
UVLF Košice, SR, Katedra hygieny
a technológie potravín
Ústav hygieny a technológie mäsa
Komenského 73, 041 81 Košice.
e-mail: Beata.Korenekova@uvlf.sk

Kožárová Ivona, Assoc. prof., DVM, PhD.
UVMP in Košice
Department of Food Hygiene and Technology
Institute of Meat Hygiene and Technology
Komenského 73, 041 81 Košice
e-mail: ivona.kozarova@uvlf.sk

Mačuhová Lucia, Ing. PhD.
Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum
Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra
Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky.
e-mail: macuhova@vuzv.sk

Maľová Jana, MVDr., PhD.
Ústav hygieny a technológie mlieka
Katedra hygieny a technológie potravín
Univerzita veterinárskeho lekárstva a
farmácie v Košiciach,
Komenského 73, 041 81 Košice
e-mail: jana.malova@uvlf.sk

Marcinčák Slavomír, MVDr., PhD.
Univerzita veterinárskeho lekárstva
a farmácie v Košiciach
Komenského 73, 04181 Košice
tel: +421 915984756
e-mail: marcincak@uvm.sk

Oravcová Marta, Ing., PhD.
NPPC-Výskumný ústav živočíšnej výroby
Nitra, Lužianky
Odbor systémov chovov, šľachtenia a kvality
produktov
Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky
e-mail: oravcova@vuzv.sk

Petríková Dominika, Mgr.
UVLF Košice
Katedra hygieny a technológie potravín
Ústav hygieny a technológie mäsa
Komenského 73, 041 81 Košice
e-mail: Dominika.Petrikova@student.uvlf.sk

Regecová Ivana, MVDr., PhD.
UVLF v Košiciach
Katedra hygieny a technológie potravín
Ústav hygieny a technológie mäsa
Komenského, 73, 04181 Košice
e-mail: ivana.regecova@uvlf.sk

Semjon Boris, MVDr.
Katedra hygieny a technológie potravín
Ústav hygieny a technológie mlieka
Univerzita veterinárskeho lekárstva
a farmácie v Košiciach, Komenského
73, 041 81 Košice, Slovenská republika
e-mail: boris.semjon@student.uvlf.sk

Tančin Vladimír, prof. Ing., DrSc.
NPPC Výskumný ústav živočíšnej výroby
Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky
e-mail: vladimir.tancin@uniag.sk

Uhrinčať Michal, PaedDr., PhD.
Národné poľnohospodárske a potravinárske
centrum
Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra
Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky
e-mail: uhrincat@vuzv.sk

Vataščinová Tatiana, MVDr.
UVLF v Košiciach
Ústav hygieny a technológie mlieka
Komenského 73, 04181 Košice
e-mail: andraskovata@gmail.com

Vršková Martina, Ing., Ph.D.
NPPC – VÚŽV Nitra,
Odbor systémov chovu, šľachtenia a kvality
produktov, Hlohovecká 2, 951 46 Lužianky
e-mail: vrskova@vuzv.sk

Zeleňáková Lucia, doc., Ing., PhD.
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
e-mail: Lucia.Zelenakova@uniag.sk

Zigo František, MVDr., PhD.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie
v Košiciach, Ústav chovu zvierat
Komenského 73, 041 80, Košice,
e-mail: frantisek.zigo@uvlf.sk

Hygiena a technologie potravin – XLVIII. Lenfeldovy a Höklovy dny

Vydala: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Náklad: 290 ks

Počet stran: 373

Vydání: první

Copyright © 2018 Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

ISBN: 978-80-7305-808-1